

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série U, N° 20

LE DOSAGE DE LA GLYCYRRHIZINE
DANS LES
PRÉPARATIONS DE RÉGLISSE

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le octobre 1938

PAR

Robert VIRATELLE

Pharmacien
Ex-Interne des Hôpitaux de Paris
Interne des Asiles de la Seine

JURY { MM. A. GORIS, *Président.*
M. MASCRÉ, *Professeur.*
M. M. JANOT, *Maître de Conférences.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

—
1938

UNIVERSITÉ DE PARIS
FACULTÉ DE PHARMACIE
Série U, N° 20

LE DOSAGE DE LA GLYCYRRHIZINE
DANS LES
PRÉPARATIONS DE RÉGLISSE

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le octobre 1938

PAR

Robert VIRATELLE

Pharmacien
Ex-Interne des Hôpitaux de Paris
Interne des Asiles de la Seine

JURY { MM. A. GORIS, *Président.*
 M. MASCRÉ, *Professeur.*
 M. M. JANOT, *Maître de Conférences.*

PARIS
JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS
15, RUE RACINE, 15

—
1938

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, *Doyen*, *, ☉ I.
 P. LEBEAU, *Assesseur*, O. *, ☉ I. Membre de l'Institut.
 H. J. LIONNET, *Secrétaire*, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. LEBEAU, O. *, ☉ I, Membre de l'Institut.	Pharmacie chimique.
GORIS, O. *, ☉ I.	Pharmacie galénique.
DAMIENS, *, ☉ I.	Chimie minérale.
HERISSEY, O. *, ☉ I.	Chimie biologique.
SOMMELET, *, ☉ I.	Chimie organique.
LUTZ, *, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, *, ☉ I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. *, ☉ I.	Zoologie.
DELABY, *, ☉ I.	Chimie analytique.
PICON, *, ☉ I.	Physique.
MASCRÉ, ☉ I.	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
BACH, ☉ I.	Botanique générale.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. *, ☉ I. — GUÉRIN O. *, ☉ I.

Professeurs honoraires :

MM. BÉHAL, G. O. *, ☉ I, et DELÉPINE, O. *, ☉ I, Membres de l'Institut.
 GUERBET, *, ☉ I, PERROT, C. *, ☉ I., COUTIERE, O. *, ☉ I.,
 BOUGAULT, O. *, ☉ I. et TASSILLY, O. *, ☉ I.

MAITRES DE CONFÉRENCES

FLEURY, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
BEDEL, ☉ I.	Minéralogie, Législation et Déontologie pharmaceutiques.
RÉGNIER, ☉ I.	Parasitologie.
CHARONNAT, ☉ I.	Chimie et Pharmacie Chimique.
JANOT	Pharmacie galénique et biologie végétale.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE, travaux pratiques de 1 ^{re} année.	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER, ☉ I, trav. pratiqu. de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
PARIS.	Micrographie.
CORRIEZ.	Physique.
VALLETTE, ☉ I.	Microbiologie.
GUILLLOT, travaux pratiques de 4 ^e année.	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.

Bibliothécaire en chef : M. GARNIER, ☉ A.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR ALBERT GORIS

Officier de la Légion d'honneur
Membre de l'Académie de Médecine
Directeur de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux
et Hospices civils de Paris

En témoignage de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MARCEL MASCRÉ

Pharmacien des Hôpitaux de Paris

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR MAURICE-MARIE JANOT

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Paris

*Témoignage de ma sincère reconnaissance
et de mon profond dévouement.*

A LA MÉMOIRE DE MON PERE

A MA MÈRE

*Gage de mon affection et de ma reconnais-
sance*

A MA FIANCÉE

AUX MIENS ET A MES AMIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

LE DOSAGE DE LA GLYCYRRHIZINE DANS LES PRÉPARATIONS DE RÉGLISSE

La Glycyrrhizine (1) qu'il ne faut pas confondre avec ses diverses combinaisons, dont la plus importante est le glycyrrhizate d'ammonium, a d'abord été mise en évidence dans plusieurs espèces du genre *Glycyrrhiza*, parmi lesquelles l'espèce officinale : *Glycyrrhiza glabra* L, et ensuite chez d'autres LÉGUMINEUSES : le Jéquirity ou Réglisse d'Amérique (*Abrus précatorius* L) ; *Astragalus glycyphyllos* L, et *Astragalus* divers ; la racine de Burgrave ou Arrête Bœuf (*Ononis spinosa* L) ; la racine du Trèfle des Alpes, dit réglisse des montagnes (*Trifolium alpinum* L) ; *Periandra dulcis* Mart ; *Lathyrus niger* Bernh (= *Orobis niger* L).

On la rencontre également dans les OMBELLIFÈRES (*Myrrhis odorata* L) et dans les SAPOTACÉES (*Chrysophyllum glycyphloeum*. Cas (*Lucuma glycyphloea* Mont et Eichl)

Chez les FOUGÈRES, enfin, on la trouve dans le genre *Polypodium* et spécialement dans le rhizome de polypode du chêne (*Polypodium vulgare* L).

Le problème qui nous a été posé, était d'étudier le dosage de la glycyrrhizine dans les préparations officinales à base de réglisse et tout spécialement dans le suc. La méthode du CODEX 1908 ne donnait pas, en effet, de résultats satisfaisants. Elle a été abandonnée dans l'édition de 1937.

Nous avons pensé que notre travail consistait en premier lieu à étudier les nombreux dosages publiés et à chercher si les résultats qu'ils fournissent peuvent être ou non utilisés. C'est pourquoi nous avons fait une étude systématique de tous ces procédés.

(1) Dans toute cette étude nous désignerons sous le nom de glycyrrhizine l'acide glycyrrhizique, mais jamais ses sels.

Le travail de LINZ [38], en 1916, avait déjà rempli ce but et nous a servi de base pour l'étude critique des méthodes proposées soit avant, soit après 1916.

Notre but était, évidemment, d'aboutir à une méthode qui fut autant que possible d'une précision acceptable, pratique et rapide, tout en demeurant généralisable au contrôle des préparations de réglisse autres que le suc.

Dans une étude de ce genre il était indispensable de rappeler les propriétés physiques et chimiques de l'acide glycyrrhizique. La constitution de la glycyrrhizine ayant pris tout récemment un développement nouveau, nous avons jugé utile de la traiter dans un chapitre spécial.

Ce travail est exposé dans l'ordre suivant :

La glycyrrhizine.

CHAPITRE I. — *Historique et constitution.*

CHAPITRE II. — *Caractères physiques et chimiques.*

CHAPITRE III. — *Dosage dans le suc de réglisse.*

I. Le liquide employé pour dissoudre le suc.

II. Les méthodes de dosage sans hydrolyse de la glycyrrhizine.

1° Méthodes pondérales.

2° Méthode volumétrique.

III. Les méthodes de dosage avec hydrolyse de la glycyrrhizine.

1° Dosage de l'acide uronique.

2° Dosage du furfurol.

Conclusions.

CHAPITRE IV. — *Dosage dans l'extrait de réglisse.*

CHAPITRE V. — *Dosage dans les glycyrrhizines commerciales.*

CHAPITRE VI. — *Dosage dans la racine et dans la poudre de réglisse.*

CONCLUSIONS.

* * *

Ces travaux ont été poursuivis à la Faculté de Pharmacie de Paris, dans le Laboratoire de M. le Professeur A. GORIS, auquel j'exprime ma profonde gratitude pour son accueil très bienveillant et pour l'intérêt qu'il m'a souvent témoigné.

Je tiens à remercier M. le Professeur M. MASCRÉ d'avoir bien voulu accepter de faire partie de mon jury de thèse.

M. M.-M. JANOT m'a indiqué mon sujet de thèse et a dirigé mon travail ; je lui resterai très reconnaissant de ses nombreux conseils et encouragements et surtout de sa sympathie toujours bienveillante.

J'ai trouvé auprès de mes collègues du Laboratoire une franche camaraderie et souvent une aide précieuse. Je garderai longtemps le souvenir de l'une et de l'autre.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements au Conseil de la Faculté, qui m'a attribué une fraction importante du legs Pousson.

CHAPITRE I

Historique et constitution de l'acide glycyrrhizique.

Les premières notions précises sur la glycyrrhizine, semblent être dues aux travaux de TSCHIRCH et de ses collaborateurs. De nombreux auteurs cependant, avaient essayé avant eux d'isoler la glycyrrhizine à l'état pur, d'en déterminer la constitution et de la doser. Dès 1808, PFAFF ⁽¹⁾ étudie le « glycion ». ROBIQUET, en 1809 et DÖBEREINER en 1816, l'appellent glycyrrhizine et cherchent à l'isoler. C'est aussi le but d'un certain nombre de travaux, dont ceux de BERZÉLIUS en 1827, RUMPF en 1855, MARTIN et HIRSCH, tous deux en 1860. VOGEL en 1843, analyse un produit jaune clair et lui donne la formule $C_{16}H_{26}O_6$, tandis que LADE, en 1846, l'écrit $C_{36}H_{48}O_{14}$, mettant en évidence, 0,03 à 0,06 % d'azote qu'il attribue à une impureté. GORUP-BESANEZ admet en 1861 qu'il est en présence d'un glucoside que les acides forts hydrolysent suivant l'équation :



pour donner la glycyrrhétine (acide glycyrrhétique). ROUSSIN, en 1875, considère la glycyrrhizine comme un acide, existant dans la plante sous forme de sels alcalins. Cet acide glycyrrhizique possède, d'après HABERMANN, la formule $C_{44}H_{63}NO_{18}$, et l'acide glycyrrhétique $C_{32}H_{48}NO_4$. En 1898,

(1) Pour la bibliographie des travaux antérieurs à TSCHIRCH et CEDERBERG, voir la thèse de CEDERBERG.

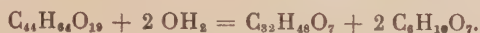
TSCHIRCH et RELANDER mettent en évidence la présence d'hydroxyles dans la glycyrrhétine.

Reprenant les travaux antérieurs, TSCHIRCH avec CEDERBERG [12 et 73] en 1907, puis avec GAUCHMANN [25 et 74] en 1908, isole le premier l'acide glycyrrhizique à l'état pur et montre que :

1° L'acide glycyrrhizique n'est pas azoté ;

2° Sa formule est $C_{44}H_{64}O_{19}$;

3° Il s'hydrolyse suivant la formule :

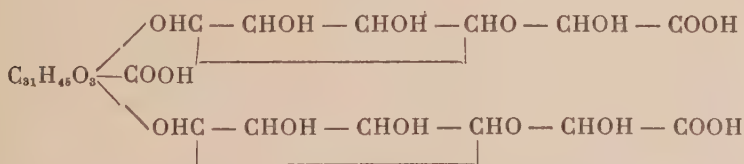


4° L'acide glycyrrhétique obtenu dans l'hydrolyse peut s'écrire :

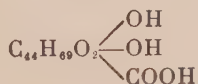


5° $C_6H_{10}O_7$ peut s'écrire $COOH-(CHOH)^4-CHO$ et serait identique à l'acide glycuronique ;

6° Tout ceci conduit à représenter l'acide glycyrrhizique par la formule :



En 1921, KARRER et ses collaborateurs [33] confirment l'absence d'azote dans la molécule de glycyrrhizine. Ils signalent une cause d'erreur due au fait que, dans la méthode de DUMAS, il reste un gaz inerte si l'on opère normalement, ce qui ne se produit pas si l'on brûle lentement. Ce gaz, que l'on a à tort considéré comme de l'azote, est du méthane. Ils donnent à l'acide glycyrrhétique la formule :



se combinant à deux molécules d'acide glycuronique dans les conditions indiquées par TSCHIRCH. *Les deux hydroxyles sont alcooliques et non phénoliques.*

Tocco-Tocco [67] compare en 1924 certains caractères de l'acide glycyrrhizique avec ceux des saponines. BERTOLO [8] en 1925, étudie des réactions colorées qui lui semblent dues à la formation, par hydrolyse, de furfurol et d'un corps donnant des colorations avec le furfurol. La même année, PEYER [47] montre que l'acide glycyrrhizique présente les caractères d'une saponine et d'un colloïde. GALASSI [24] en 1927 pense que le corps formé au cours de l'hydrolyse est de l'acide gluconique et non pas de l'acide glycuronique.

RUZICKA et VAN VEEN [58] obtiennent de la sapotaline par déshydrogénation de l'acide glycyrrhétique (1).

BERGMANN [7] montre le premier en 1933 que l'acide glycyrrhétique est dextrogyre, ce qui serait dû à une liaison α -glucosidique et il lui attribue la formule $C_{23}H_{36}O_3$, celle de l'acide glycyrrhizique étant $C_{30}H_{46}O_{13}$. Celui-ci s'hydrolyse en libérant une molécule d'acide glycyrrhétique, une molécule d'anhydride carbonique, une molécule d'eau et une molécule d'un corps en $C_6H_{10}O_7$. Ce dernier est acide, réducteur et donne la réaction de la naphtorésorcine, tous caractères d'un acide uronique. Il n'a pas été possible d'affirmer son identité avec l'acide glycuronique, l'auteur ayant cherché en vain à le caractériser à l'état de 2-4-dinitrophénylhydrazone.

L'acide glycyrrhétique posséderait un groupement carboxyle, lié à un atome de carbone dont les quatre valences sont reliées directement à des carbones ; un seul hydroxyle alcool secondaire, des groupes méthyle (sans doute deux) et une autre chaîne latérale. Ces groupes méthyle donneraient du méthane dans les conditions précisées par KARRER.

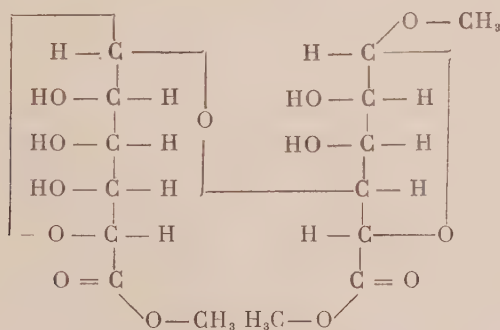
On n'a pu déceler l'existence de doubles liaisons, mais il

(1) GAUCHMANN avait émis l'hypothèse de la présence d'un cycle naphtalénique. L'oxydation de la glycyrrhizine lui avait donné un peu d'acide phtalique, et la distillation avec de la poudre de zinc, des traces de naphtalène. KARRER avait rejeté cette conclusion, attribuant la présence de ces corps à des condensations pyrogénées. Il semble, après les travaux de RUZICKA et de VAN VEEN, que l'on doive revenir à la conception de GAUCHMANN.

n'y a pas de preuves formelles contre leur présence. La formule proposée laisse supposer l'existence d'une double liaison.

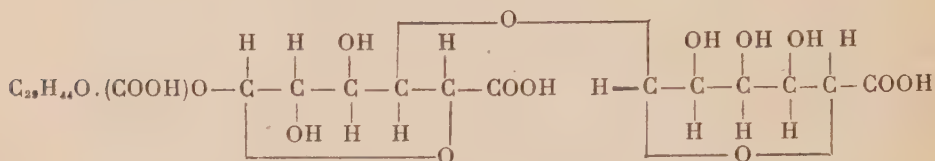
En 1936-1937, Voss et ses collaborateurs [76 à 78], préparent l'acide glycyrrhizique et ses sels mono-ammoniacal, mono- et tripotassiques. Tous ces corps sont optiquement actifs. L'acide glycyrrhizique aurait la formule $C_{42}H_{62}O_{16}$ et l'acide glycyrrhétique, $C_{30}H_{46}O_4$, aurait 2 isomères α et β , suivant que ce corps est obtenu par hydrolyse ou par alcoolyse. Les deux variétés se transforment facilement l'une dans l'autre. L'acide ne possède qu'un seul hydroxyle et il est monoacide.

D'autre part, par hydrolyse au moyen de l'acide chlorhydrique dans l'alcool méthylique, les auteurs ont obtenu à l'état cristallisé un ester diméthylque de l'acide 1 méthyl-dihexuronique, représenté par la formule ci-contre, dans laquelle les hydroxyles alcooliques ainsi que les méthoxy glycosidiques ont été placés arbitrairement, car on n'a pas encore identifié la nature de l'acide uronique (glycuronique ou galacturonique) correspondant.

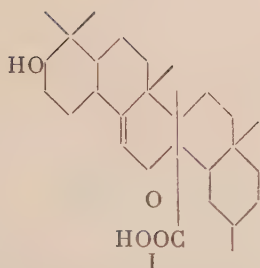


Si l'on admet avec ces auteurs que, au cours de l'alcoolyse de l'acide glycyrrhizique, la liaison entre le plus proche acide uronique est ouverte, que le reste de l'acide glycyrrhétique est remplacé par le reste méthoxyl et que la formation du dissaccharide glucosidique entre les deux acides hexuroniques est maintenue, on acceptera avec eux de représenter l'acide glycyrrhizique par la formule suivante,

dans laquelle l'acide uronique est lié disaccharidiquement à l'aglycone, ce qui explique à la fois la présence d'un seul hydroxyle et de deux molécules d'acide uronique :



RUZICKA et ses collaborateurs [54 à 57] reprennent en 1936-1937 l'étude de la constitution de l'acide glycyrrhétique, mais sans étudier l'acide uronique. Leurs résultats concordent avec ceux de Voss. Ils confirment l'existence de deux acides isomères α et β , se transformant facilement l'un dans l'autre par cristallisation dans le méthanol et présentant le même pouvoir rotatoire dans le chloroforme. De formule $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_4$, ils se rapprochent de certains triterpènes avec qui ils possèdent le caractère de donner de la sapotoline. Sur les quatre atomes d'oxygène, deux appartiennent au carboxyle, un à l'hydroxyle et le quatrième à un groupement cétone α - β , non saturé ; le spectre de l'acide acétylglycyrrhétique présente en effet dans l'ultra-violet des bandes caractéristiques de ce groupement et sa courbe d'absorption coïncide d'autre part avec celle de l'acide céto-acétyloléanolique, ce qui laisse supposer que l'acide glycyrrhétique et l'acide céto-oléanolique (schéma I) seraient isomères. L'hydrogénation catalytique de dérivés de l'acide glycyrrhétique en présence de noir de platine demande deux molécules d'hydrogène pour remplacer le quatrième atome d'oxygène par deux atomes d'hydrogène et transformer le groupe cétone en groupe méthylène. Ce groupe cétone serait placé en β ou γ par rapport au carboxyle. On passe ainsi de l'acide glycyrrhétique $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_4$ à l'acide désoxyglycyrrhétique $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$.



RUZICKA et ses collaborateurs n'ont pu obtenir avec l'acide glycyrrhizique ni semicarbazone, ni oxime, ni réaction avec l'anhydride acétique.

BERGMANN (6) maintient en 1937, la formule en C_{23} qu'il a précédemment indiquée, n'ayant pas pu avoir connaissance des derniers travaux de RUZICKA. L'étude aux rayons X de l'acide glycyrrhétique ne lui permet pas d'apporter de résultats définitifs.

Il convient également de signaler les travaux de Tocco-Tocco [66] sur l'action physiologique de la glycyrrhizine et ceux d'HOFMANN [30] sur l'action des ferments du foie et du rein vis-à-vis de l'acide glycuronique combiné ; cet auteur conclut, par une méthode différente de l'analyse chimique, à la présence d'acide glycuronique dans la molécule de glycyrrhizine.

On peut tirer de ces travaux, qui présentent des difficultés réelles, les conclusions suivantes, en ce qui concerne :

1° L'ACIDE GLYCYRRHIZIQUE : il a la formule $C_{42}H_{62}O_{16}$ et s'hydrolyse en une molécule d'acide glycyrrhétique et deux molécules d'acide uronique, qui pourraient être reliées disaccharidiquement à l'aglycone.

2° L'ACIDE GLYCYRRHÉTIQUE : il a pour formule : $C_{30}H_{46}O_4$, ce qui le fait entrer dans la classe des triterpènes (avec l'acide oléanolique et les amyrines). Les quatre atomes d'oxygène seraient figurés dans la molécule par un groupement carboxyle-COOH, un groupement hydroxyle-OH et le quatrième sous forme oxydique-O-.

Dans le chapitre II, nous avons rapproché dans un même tableau quelques formules et constantes physiques indiquées par les auteurs cités ci-dessus.

CHAPITRE II

Caractères physiques et chimiques de la glycyrrhizine.

Isolé à l'état pur, suivant la méthode de TSCHIRCH et CEDEBERG [73], ou celle de Voss et de ses collaborateurs [76 à 78], l'acide glycyrrhizique se présente en poudre cristalline blanche ou en prismes cristallins incolores, ou en lamelles jaune pâle, brillantes, lisses, légères. Il est inodore, mais, sa solution dans les alcalis peut présenter une odeur caractéristique rappelant celle de la racine. Il est insipide, mais placé sur la langue il se dissout dans la salive en donnant un glycyrrhizate alcalin de saveur douce intense, qui ne se développe qu'au bout d'un certain temps.

Assez peu soluble dans l'eau froide, il se dissout dans l'eau chaude et mieux dans l'eau bouillante en donnant dans ce dernier cas une solution qui, par refroidissement, se prend en une masse diaphane, formant un gel de consistance variable. Par chauffage cette masse redevient liquide. La solubilité exacte dans l'eau distillée pure et dans l'eau acidulée a été déterminée à 0° et à 15°, mais nous verrons plus loin que l'on ne peut utiliser aucun de ces chiffres pour le dosage. La plupart des auteurs admettent que la glycyrrhizine est moins soluble dans l'eau éthérée que dans l'eau pure.

L'acide glycyrrhizique est soluble dans l'alcool méthylique, dans l'alcool éthylique absolu bouillant, dans l'alcool dilué, dans l'acétone.

Il est insoluble dans l'alcool absolu froid, l'éther, le chloroforme, le xylol, le sulfure de carbone, l'alcool amylique, le benzène et l'éther de pétrole. Insoluble dans les acides dilués, il se dissout dans les acides concentrés. Il est soluble dans l'acide acétique bouillant, d'où il cristallise par refroidissement.

L'acide glycyrrhizique dévie à droite le plan de la lumière polarisée. Il n'est pas sublimable. Ses solutions moussent par agitation. PEYER [47] classe la glycyrrhizine parmi les colloïdes.

Les valeurs trouvées pour le point de fusion et le pouvoir rotatoire sont énumérées dans le tableau suivant :

	Acide glycyrrhizique			Acide glycyrrhétique		
	P.F.	Pouvoir rotatoire	Formule	P.F.	Pouvoir rotatoire	Formule
TSCHIRCH et COLL. 1907-1908.....	205°	Inactif	$C_{44}H_{64}O_{49}$	210°	Inactif	$C_{32}H_{48}O_7$
KARRER ET COLL. 1921.....	220°	Inactif		297-8°	Inactif	$C_{45}H_{72}O_6$
BERGMANN 1933..		+ 62°1 (Acide acétique aqueux)	$C_{30}H_{46}O_{43}$	303°	+ 145°5-146 (Dioxane)	$C_{23}H_{36}O_3$
VOSS ET COLL. 1936-1937.....		+ 58°5 (Alcool absolu)	$C_{42}H_{62}O_{46}$	283°	+ 140° (Alcool absolu)	$C_{30}H_{46}O_4$
				296°	+ 86° (Alcool absolu)	$C_{30}H_{46}O_4$
RUZICKA - LEUENBERGER 1936...				287-293°	+ 163° (Chloroforme)	$C_{30}H_{46}O_4$ ou $C_{30}H_{44}O_4$
				300-304°	+ 161° (Chloroforme)	$C_{30}H_{46}O_4$ ou $C_{30}H_{44}O_4$
RUZICKA - FURTER et LEUENBERGER 1937				296°		$C_{30}H_{46}O_4$
				298°		

L'acide glycyrrhizique est un *triacide*, acide au tournesol et donnant des sels neutres et acides.

Avec les alcalis il donne des sels, les glycyrrhizates, d'une saveur sucrée très prononcée, solubles dans l'eau, peu solubles dans l'alcool fort, mais présentant dans l'alcool absolu une solubilité voisine de celle de l'acide dans l'eau. On connaît aussi les glycyrrhizates des métaux lourds et des alcalino-terreux.

CAPIN [11] a préparé des glycyrrhizates d'amines.

L'hydrolyse de la glycyrrhizine peut se faire suivant la méthode de TSCHIRCH et CEDERBERG par ébullition de cinq heures avec de l'acide sulfurique à 3 %. BERGMANN [6] laisse trois heures à l'autoclave en présence d'acide sulfurique N/5. RUZICKA et ses collaborateurs [54 à 58] opèrent d'une façon voisine. Ainsi que nous l'avons vu, il y a formation d'une molécule d'acide glycyrrhétique et de deux molécules d'un acide uronique dont la nature n'est pas exactement déterminée. D'après Tocco-Tocco [66], l'émulsine, les ferments du fromage et des levures hydrolysent la glycyrrhizine.

Quelle place attribuer à l'acide glycyrrhizique dans la classification ? Suivant les auteurs, on en a fait un acide, un hétéroside, ou un saponoside. Il semble bien que la glycyrrhizine présente les caractères des saponosides.

Soluble dans les alcalis très dilués, l'acide glycyrrhizique donne une solution qui précipite par les acides. La solution dans l'acide sulfurique concentré passe du jaune intense au rouge violacé, par chauffage léger. Au repos il se précipite une poudre grise. Par ébullition avec la liqueur cupropotassique, ce réactif n'est pas réduit, même en maintenant longtemps l'ébullition. Le nitrate d'argent ammoniacal n'est pas réduit non plus. Mais la réduction se fait si, au préalable, on a fait bouillir longtemps la glycyrrhizine avec un acide minéral.

Si l'on ajoute dans un verre de montre à une solution d'acide glycyrrhizique dans l'acide sulfurique une goutte de solution aqueuse de pipéronal, il se forme une coloration rouge vineux passant lentement au violet avec un léger trouble. Si le pipéronal est ajouté en fragments solides, en

faisant glisser un petit cristal sur le bord du verre, au point de contact avec la solution sulfurique, il se forme d'abord une coloration verdâtre, qui, par léger chauffage passe au rouge et finalement au violet intense.

En ajoutant de même quelques cristaux de vanilline, il se forme au point de contact une coloration rouge violette qui se diffuse dans toute la masse lorsque l'on agite, et qui persiste plusieurs jours.

Avec une goutte de solution d'aldéhyde salicylique il se produit rapidement une coloration rouge sang passant lentement au violet. L'aldéhyde anisique donne d'abord une coloration violette, tournant au rouge pour revenir à un violet persistant. La coloration rouge obtenue avec l'aldéhyde cinnamique, passe lentement au violet intense et par chauffage, au verdâtre.

D'autres aldéhydes sont sans action : l'aldéhyde benzoïque, la nitro-benzaldéhyde, la solution aqueuse de formol.

BERTOLO [8], qui a signalé ces réactions colorées, les explique en admettant que l'acide sulfurique agit sur la glycyrrhizine en libérant du furfurol et un corps donnant avec celui-ci des réactions colorées. Il faudrait l'attribuer à la présence d'une fonction non encore déterminée de l'acide glycyrrhétique.

En terminant, il paraît presque superflu d'ajouter que ces colorations ne sont pas spécifiques.

CHAPITRE III

Dosage de la glycyrrhizine dans le suc de réglisse.

« Le produit commercial nommé improprement suc de réglisse est l'extrait aqueux desséché, auquel se trouvent mélangés les sels terreux provenant de l'eau commune ayant servi à sa préparation, ainsi que les produits de l'altération de l'extrait par la chaleur. On y rencontre soit des matières ajoutées telles que le sucre, l'amidon, etc... »

L'édition 1937 du CODEX, fait suivre cette définition de divers essais et exige un titre minimum de 10 % de glycyrrhizine ammoniacale.

La valeur d'un suc de réglisse n'est pas seulement proportionnelle à sa teneur en glycyrrhizine. Il faut tenir compte aussi de la proportion de la partie soluble et de la partie insoluble dans l'eau, de la teneur en sucres et de la quantité d'eau et de cendres. Il va sans dire que les caractères organoleptiques jouent un rôle de premier plan dans l'appréciation d'un produit destiné à être consommé en nature ou en confiserie.

La glycyrrhizine reste cependant le principe le plus important, et c'est aussi le plus délicat à doser exactement. La constitution de cet acide, en effet, n'est pas encore complètement établie et il existe, tant dans la racine que dans les préparations de réglisse, d'autres substances de caractères physiques et chimiques voisins.

Parmi les nombreux travaux publiés, l'étude de LINZ [38] en 1916 sur le dosage de la glycyrrhizine dans la racine et

dans le suc forme un examen complet des méthodes antérieures. Nous la prendrons comme base et nous en ferons d'abondantes citations. En particulier nous rappellerons brièvement les conclusions de cet auteur sur les procédés de dosage qu'il a étudiés, en insistant sur ceux de ces procédés qui sont utilisables.

Nous étudierons successivement :

I. Le liquide employé pour dissoudre le suc.

II. Les méthodes de dosages sans hydrolyse de la glycyrrhizine.

III. Les méthodes de dosage avec hydrolyse de la glycyrrhizine.

Enfin, nous rassemblerons les procédés qui donnent des résultats acceptables et nous chercherons celui qui nous semble préférable.

I. — Le liquide employé pour dissoudre le suc.

Tous les procédés de dosage proposés, aussi bien pour le suc que pour les autres produits à base de réglisse, comprennent deux parties bien distinctes :

— extraction de la glycyrrhizine,

— dosage proprement dit.

L'importance de l'extraction préalable est évidente car le dosage sera d'autant plus facile et d'autant plus exact que l'on aura éliminé plus d'impuretés. Le suc n'est entièrement soluble dans aucun des solvants habituels.

On semble d'accord pour considérer que, dans la racine, l'acide glycyrrhizique existe sous forme combinée et pour une petite partie sous forme libre. Au cours de la préparation du suc, l'acide libre se combine aux bases de la racine ou de l'eau commune et ainsi, le suc ne contiendrait que de l'acide combiné et à peu près uniquement à l'état de sels de potassium, d'ammonium, de magnésium et de calcium. LINZ [38] admet que l'eau dissout les sels des trois premières bases et que le sel de calcium est en si petite quantité

que l'acide correspondant est également dissous dans ce solvant, ainsi que les traces éventuelles d'acide libre. Donc, tout l'acide glycyrrhizique est pratiquement soluble dans l'eau.

Aussi le premier liquide d'extraction proposé est l'*eau pure*. Il présente l'inconvénient de dissoudre non seulement la glycyrrhizine, mais encore des gommes et des mucilages, que l'on retrouve sous forme d'impuretés dans le produit pesé, soit une cause d'erreur importante. Il faut également signaler que la solution aqueuse filtre très lentement (plusieurs journées pour 100 cm³) et se clarifie mal par centrifugation.

On a proposé aussi la dissolution par l'*eau ammoniacale*, qui dissoudrait davantage de substances que l'eau pure et qui faciliterait la solubilisation de la glycyrrhizine. Il est exact que le pouvoir dissolvant de l'eau ammoniacale vis-à-vis du suc de réglisse est plus grand que celui de l'eau pure. En effet, le résidu insoluble dans l'eau pure, traité par l'eau ammoniacale, donne un filtrat très noir, laissant par évaporation une substance noire assez abondante. Celle-ci est insipide et ne donne pas de coloration par le réactif sulfo-vanillique. Elle ne contient donc pas de glycyrrhizine et on peut admettre que toute cette substance a été dissoute par l'eau distillée. L'addition d'ammoniaque est par suite inutile. Elle va même à l'encontre du but recherché, car la solution dans l'eau ammoniacale filtre encore plus difficilement que celle dans l'eau pure et elle contient davantage de substances étrangères, qu'il sera malaisé d'éliminer par la suite et qui viendront s'ajouter au produit pesé. Ce dernier est très impur comme on peut le constater dans l'essai des procédés qui conseillent ce mode d'extraction. Enfin, HAFNER [28] prétend que le glycyrrhizate de calcium est peu soluble dans l'ammoniaque.

L'addition d'alcool, en quantité suffisante à la solution aqueuse permet d'obtenir un liquide qui filtre bien, de titre alcoolique tel que l'acide glycyrrhizique et ses sels y sont entièrement solubles, alors que les gommes et les mucilages sont éliminés. Le produit pesé contient moins

d'impuretés que dans les cas précédents. Ce procédé a encore l'avantage d'être rapide et simple. L'addition d'ammoniaque soit à l'eau soit à la solution alcoolique ne semble pas utile, pour les mêmes raisons que précédemment.

Enfin, on a proposé l'emploi d'*alcool en présence d'acide sulfurique* qui libère l'acide glycyrrhizique de ses combinaisons et facilite sa dissolution. Ce procédé ne permettrait pas, d'après LINZ [38], de dissoudre toute la glycyrrhizine, mais il semble qu'il suffirait pour atteindre ce but de modifier la technique employée. Celle de PEYER [47], par exemple, ne mérite pas cette objection. On peut surtout reprocher à ce procédé d'être long et moins simple que la macération dans l'alcool dilué. Plus tard, pendant l'évaporation de la solution alcoolique, il se forme un précipité assez abondant, insoluble dans l'eau et difficile à laver. Pour toutes ces raisons, ce procédé, théoriquement juste, n'est pas d'un emploi facile.

Sans doute, certaines substances sont solubles dans l'alcool dilué, qui ne seraient pas dissoutes par l'alcool sulfurique. Ces impuretés seront éliminées en reprenant l'acide glycyrrhizique par l'alcool ainsi que nous verrons plus loin (Cf. p. 29).

PEYER a également employé l'acétone en présence d'acide sulfurique, ce qui présente sensiblement les mêmes inconvénients que l'alcool sulfurique.

II. — Les méthodes de dosage sans hydrolyse de la glycyrrhizine.

Ces méthodes sont les plus nombreuses et beaucoup ne diffèrent entre elles que par des modifications de détail. La glycyrrhizine est isolée et purifiée. Le dosage se termine généralement par des méthodes pondérales. Un seul auteur propose un titrage acidimétrique.

A. — MÉTHODES PONDÉRALES

Remarquons tout d'abord que ces méthodes, toutes basées sur le fait que l'acide glycyrrhizique est soluble dans

l'alcool ou dans les alcalis dilués, et insoluble en milieu acide, méritent une importante critique : on pèse un produit qui n'est pas pur et que l'on ne peut obtenir quantitativement. C'est pour diminuer l'importance de cette double cause d'erreur que les auteurs ont fait intervenir, les uns une purification de l'acide glycyrrhizique, les autres une correction de solubilité ou un certain nombre de manipulations destinées à la récupération de la glycyrrhizine perdue. Malgré l'imperfection évidente des méthodes pondérales, ce sont elles qui nous donnent les résultats les « meilleurs », c'est-à-dire, les plus constants et les moins critiquables scientifiquement. Dans l'état actuel de la question, il semble qu'il doive en être encore longtemps ainsi. Nous prendrons encore comme base, pour étudier ce chapitre, le travail de LINZ [38]. Comme cet auteur, nous étudierons d'abord les conditions générales du dosage ; puis nous résumerons ses critiques sur les procédés étudiés par lui. Nous reprendrons ensuite en détail les méthodes utilisables, ainsi que celles qui ont été publiées depuis son travail.

***La solubilité de l'acide glycyrrhizique
et les pertes qu'elle cause.***

La plupart des procédés de dosage comportent la précipitation par un acide de la glycyrrhizine en solution aqueuse. Mais cette précipitation n'est pas complète à la température ordinaire. En effet, CAPIN [11] a signalé que, si l'on filtre une solution d'où l'on a précipité l'acide glycyrrhizique, le filtrat, limpide à la température ordinaire, se trouble par refroidissement à 0°. Le même auteur a déterminé la solubilité de l'acide glycyrrhizique dans l'eau pure (0,55 % à 0° et 0,575 % à 15°), alors que HAFFNER [28] trouve 1,67 %. DURIER [17], pour se rapprocher des conditions du dosage, fait la même mesure à 15° dans l'eau acide et aboutit à 0,03 %. Tous trois opèrent avec des acides glycyrrhiziques impurs, ce qui explique la discordance des résultats. CORMINBŒUF [14] propose une solubilité de 0,50 % et PICHARD [51],

pour l'acide pur, de 0,1 % à 18-20°. Ces valeurs ont servi à déterminer des coefficients de solubilité, que l'on fait intervenir en les ajoutant aux chiffres obtenus par pesée. Même en admettant que la valeur fixée par PICHARD fût rigoureusement exacte, il ne nous semble pas que l'emploi d'une correction de solubilité soit légitime. En effet, la proportion et la qualité des impuretés qui sont dissoutes, précipitées et pesées avec l'acide glycyrrhizique varient dans chaque cas. Aussi ne peut-on pas établir de coefficient ni avec un acide impur, ni avec l'acide pur. Ce coefficient est déterminé avec une solution saturée, alors que dans le dosage, les eaux de lavage en particulier, ne le sont pas (bien que PICHARD prétende le contraire). Enfin dans le dosage on est en présence d'une solution acide et non d'eau pure.

Il reste la possibilité de déterminer dans chaque cas les pertes causées par la solubilité. CORMINBŒUF le fait dans le dosage des glycyrrhizines commerciales. Après précipitation par l'acide sulfurique, il évapore les eaux-mères et les eaux de lavage jusqu'à siccité, lave le résidu à l'eau, le redissout dans l'ammoniaque et pèse à l'état de glycyrrhizate d'ammonium. En opérant ainsi, il laisse agir l'acide sulfurique sur le résidu pendant toute l'évaporation, ce qui le transforme en une substance peu ou pas soluble dans l'ammoniaque.

LINZ [38] sature l'acide sulfurique par l'ammoniaque et évapore à consistance sirupeuse les eaux-mères et les eaux de lavage. Le résidu est dissous dans l'eau de façon à obtenir 4 cm³ de solution par gramme de suc et il est précipité par X gouttes d'acide sulfurique par gramme de suc. Le précipité, après lavage à l'acide sulfurique dilué et à l'eau éthérée, est épuisé par l'alcool à 95° chaud, ce qui donne une solution d'acide glycyrrhizique que l'on évapore, sèche et pèse. Les pertes ne sont pas entièrement supprimées, mais elles sont minimales.

Dans les dosages qu'ils ont proposés, LINZ et HOUSEMAN (1921) [32] font intervenir une récupération des pertes.

Il faut noter enfin que les glycyrrhizates alcalins ne sont pas rigoureusement insolubles dans l'alcool absolu et que

la précipitation par l'alcool absolu préconisée par TRÜBECK [72] ne précipite pas mieux les divers glycyrrhizates que l'acide sulfurique ne précipite l'acide glycyrrhizique en solution aqueuse.

En raison de la solubilité assez grande de la glycyrrhizine, il faut indiquer avec précision, dans la technique d'un dosage : les quantités de solvants, d'acide ajouté pour la précipitation, d'eaux de lavage, etc... On reproche à de nombreuses méthodes de manquer de détails sur tous ces points. Pour obtenir des résultats comparables, il faut évidemment opérer dans des conditions toujours semblables. Cette remarque, est très importante et très générale, et nous la faisons ici parce que la solubilité de l'acide glycyrrhizique est le principal, sinon le seul facteur qui la justifie.

L'acide employé pour la précipitation.

L'acide glycyrrhizique est un acide faible, précipitable par la plupart des autres acides, mais cette précipitation n'est jamais complète. Etudiant l'action de plusieurs acides, LINZ [38] arrive aux conclusions suivantes : l'acide tartrique gélatinise les solutions. Il ne peut donc être utilisé, non plus que l'acide acétique dans lequel l'acide glycyrrhizique est soluble. Les acides borique, formique, oxalique, phosphorique et nitrique le précipitent incomplètement et, après filtration, l'acide sulfurique produit un nouveau précipité. Les acides sulfurique et chlorhydrique sont ceux qui donnent les meilleurs résultats. Ils peuvent être employés l'un et l'autre, mais c'est l'acide sulfurique qui sera préféré car l'acide glycyrrhizique est moins soluble dans l'eau sulfurique que dans l'eau chlorhydrique. HOUSEMAN [32] est d'accord avec LINZ sur l'emploi de l'acide sulfurique.

Pureté du produit pesé.

Aucun dosage ne nous permet de peser un corps chimiquement défini : cependant nous éliminerons les procédés

aboutissant à un produit trop impur, c'est-à-dire entachés d'une importante erreur par excès.

HAFFNER [28] a proposé de terminer le dosage par un essai de pureté que nous signalerons plus loin en même temps que la critique de LINZ [38]. Avec ce dernier auteur nous admettons que les seuls essais pratiques de pureté sont le goût et la couleur. Cette dernière varie du noir au brun clair et doit tendre vers le blanc. Elle est en relation avec le solvant employé pour dissoudre le suc. Elle est brun clair dans le cas de dissolution dans l'eau suivie d'une addition d'alcool, ou dans l'alcool en présence d'acide sulfurique ; brun foncé à noir dans le cas de l'eau pure et surtout de l'ammoniaque diluée. Un autre élément important de purification est la redissolution, dans l'alcool fort ou dans l'acétone, de l'acide glycyrrhizique, ce qui permet d'éliminer diverses substances insolubles dans ces solvants mais solubles dans l'alcool ou l'acétone dilués. Ce traitement par l'alcool ou par l'acétone doit être fait avec soin. Si l'on ajoute le solvant sur un filtre contenant l'acide encore humide, les premières portions filtrées d'abord limpides, précipitent lorsque le reste du solvant s'y ajoute. On devra filtrer une seconde fois. Ceci s'explique par le fait que l'eau retenue par le précipité dilue le solvant et permet à certaines impuretés de se dissoudre, pour être précipitées à nouveau, lorsque la dilution est moins grande. Pour éviter cet inconvénient, LINZ conseille de laisser sécher le précipité sur le filtre vingt-quatre heures, dans un exsiccateur à vide sur acide sulfurique. Cette précaution est inutile lorsque l'on emploie la centrifugation. Le solvant est versé sur le précipité dans le tube à centrifuger et la petite quantité d'eau, mouillant encore le précipité, n'amène qu'une dilution insuffisante pour dissoudre les impuretés dont nous parlons.

HAFFNER [28], LINZ et PEYER [47], ont étudié les avantages respectifs de l'alcool et de l'acétone pour cette purification. Leurs avis divergent. D'après LINZ, la purification par l'alcool serait meilleure. Nous avons fait plusieurs séries de deux dosages conduits exactement dans les mêmes condi-

tions et terminés par une purification les uns par l'alcool. les autres par l'acétone :

	Purification alcoolique	Purification acétonique
Suc de réglisse.....	0,18 gr. 11,05 % 11,70 %	0,14 gr. 8,25 % 8,45 %
Extrait de réglisse	29,85 % 32,40 %	26,65 % 28,25 %
Glycyrrhizine commerciale	0,57 gr.	0,48 gr.
Poudre de réglisse	11,60 % 12 %	10,85 % 11,20 %

Ces chiffres montrent que l'acétone permet d'obtenir une plus grande purification que l'alcool. Nous préférons cependant ce dernier solvant car il est possible que l'acétone laisse non dissoutes des traces de glycyrrhizine dans les conditions où l'on opère. Il semble également que la dessiccation à l'étuve soit plus longue lorsque le précipité a été purifié par l'acétone. Pour ces raisons, nous emploierons l'alcool, mais il importe de savoir que les résultats seront un peu supérieurs à ceux obtenus avec l'acétone.

D'autres purifications ont été essayées. Un premier moyen serait d'employer un solvant qui dissoudrait quantitativement soit l'acide glycyrrhizique soit l'un de ses sels, en laissant insolubles les impuretés, ou bien qui entraînerait uniquement celles-ci sans trace d'acide glycyrrhizique. On n'obtient pas de résultats utilisables, non plus que dans l'essai de formation d'une combinaison facilement isolable et dissociable. Le sel de plomb semble convenir à première vue ; celui de cuivre aussi. Mais après l'action de l'hydrogène sulfuré, on isole un produit aussi impur que celui d'où l'on part. Les impuretés qui accompagnent l'acide glycyrrhizique sont en effet acides, précipitables par les acides forts et solubles dans les alcalis.

Influence de la dessiccation du suc.

CAPIN [11] a remarqué que le glycyrrhizate d'ammonium est décomposable sous l'action de la chaleur. Dès 32°5 il

libère de l'ammoniaque et perd environ 8 % de son poids à 100°. PICHARD [51] confirme ces résultats. Nous nous sommes demandé si une partie de la glycyrrhizine n'échappait pas au dosage lorsque l'on dessèche le suc à 100°. Pour vérifier cela, nous avons dosé la glycyrrhizine dans les trois cas suivants par un même procédé :

1° Dans du suc non desséché ;

2° Dans du suc pesé non desséché, puis laissé quatre heures à 100° ;

3° Dans du suc desséché à poids constant.

Les résultats sont ensuite ramenés par calcul à 100 gr. de suc non desséché.

Dans une première série d'expériences, nous avons respectivement trouvé en prenant comme base la quantité dosée dans le suc non desséché :

		Perte %
1°	100	—
2°	87,36	12,64 %
3°	71,05	28,95 %

Dans une seconde série, avec un procédé légèrement différent (au cours de l'établissement de notre méthode) :

1°	100	
2°	81,34	18,66 %
3°	72,50	27,50 %

Ce qui montre que les résultats sont plus élevés dans le cas du suc non desséché. Nous avons traité le suc par un mélange hydro-alcoolique. La faible quantité d'eau du suc n'abaisse pas assez le titre alcoolique de ce mélange pour permettre de penser que les gommes et les mucilages ont été moins précipités et que la glycyrrhizine a été mieux dissoute. Il faut admettre qu'au cours de la dessiccation, une partie de la glycyrrhizine a été détruite ou rendue insoluble. Ce fait, qui montre combien il est important de préparer le suc ou l'extrait de réglisse à basse température, nous amène à pratiquer le dosage sur du suc non desséché. Pour être précis, on ramènera par calcul le chiffre trouvé à

100 gr. de suc desséché, la teneur en eau étant déterminée sur une prise d'essai et étant considérée comme la perte de poids à 100°.

Tous les résultats de notre travail se rapportent, sauf avis contraire, au suc non desséché, même lorsque le procédé étudié demande d'opérer sur le suc desséché. Les nombres que nous obtenons sont ainsi comparables entre eux.

Examen rapide des dosages étudiés par Linz.

LINZ [38] a groupé les dosages, qu'il a étudiés, d'après le liquide employé pour dissoudre le suc, puis d'après l'agent de précipitation de l'acide glycyrrhizique, de la façon suivante :

a) Liquide d'extraction : eau sans addition d'alcool.

α) Précipitation par l'acide sulfurique :

1. RUMP, 2. HELFENBERGER, 3. CAPIN.

β) Précipitation par l'acide chlorhydrique :

4. PHARMACOPÉE FRANÇAISE, 1908.

b) Liquide d'extraction : eau avec addition d'alcool.

α) Précipitation par l'acide sulfurique :

5. DIEHL, 6. KREMEL, 7. PY, 8. PARRY.

9. EVANS SONS, LESHAR et WEBB, 10. HOUSEMAN (1912).

11. ERIKSSON, 12. GOUIRAND.

β) Précipitation par l'acide chlorhydrique :

13. GADAIS I, 14. GADAIS II.

γ) Précipitation par l'alcool absolu :

15. TRÜBECK.

c) Liquide d'extraction : eau ammoniacale sans addition d'alcool.

α) Précipitation par l'acide sulfurique :

16. SCHRÖDER, 17. MÜNTZER, 18. MORPUGO.

β) Précipitation par l'acide chlorhydrique :

19. PHARMACOPÉE HOLLANDAISE (1905).

d) Liquide d'extraction : eau ammoniacale avec addition d'alcool.

α). Précipitation par l'acide sulfurique :

20. KINZEY, 21. ANSELMINO-GILG.

β) Précipitation par l'acide chlorhydrique :

22. STÖDER, 23. TELLE, 24. DURIER.

e) Liquide d'extraction : alcool-acide sulfurique.

Précipitation par l'acide sulfurique.

25. HAFFNER, 26. CEDERBERG, 27. SCHMIDT.

Nous citerons les critiques de LINZ dans le même ordre. Puis nous reprendrons en détail certains dosages, en même temps que celui de LINZ et que ceux qui ont été publiés depuis 1916.

a) LIQUIDE D'EXTRACTION : EAU SANS ADDITION D'ALCOOL.

Le suc est dissous dans l'eau et le liquide est filtré. La glycyrrhizine est complètement dissoute, mais la solution filtre mal et le produit pesé est assez impur.

α. *Précipitation par l'acide sulfurique.*

ce qui donne un précipité d'acide glycyrrhizique.

1. Rump [53] (1855) : le précipité est lavé, séché et pesé. C'est le premier procédé publié. Il ne présente qu'un intérêt historique.

2. Helfenberger Annalen [16] (1897) : le précipité est redissous dans l'ammoniaque, après lavage à l'eau. La solution laisse par évaporation un résidu de glycyrrhizate d'ammonium que l'on pèse. Procédé à rejeter en raison de l'emploi de l'eau pure comme dissolvant du suc, du manque de purification de l'acide glycyrrhizique et surtout de l'imprécision de certaines données.

3. Capin [11] (1911) : le précipité, lavé par décantation avec de l'eau, est dissous dans l'ammoniaque diluée et pesé, après séchage, à l'état de glycyrrhizate d'ammonium.

La précipitation et le lavage se font à 0°. On fait intervenir une correction de solubilité. Ce dosage mérite les mêmes critiques que le précédent. De plus, il y a une faute dans l'emploi de la correction de solubilité : on ajoute à la quantité pesée de glycyrrhizate d'ammonium, la quantité perdue à cause de la solubilité dans l'eau, estimée en acide glycyrrhizique sans la transformer par calcul en sel d'ammonium. Naturellement il faut se souvenir des inconvénients étudiés précédemment de l'emploi du coefficient de solubilité.

β. Précipitation par l'acide chlorhydrique.

On obtient également un précipité d'acide glycyrrhizique. Nous préférons l'emploi de l'acide sulfurique comme agent de précipitation, parce que l'acide glycyrrhizique est moins soluble dans l'eau sulfurique que dans l'eau chlorhydrique, la différence de solubilité étant néanmoins très faible.

4. **Codex français (1908)** : le précipité, lavé, est redissous dans l'eau ammoniacale et pesé à l'état de glycyrrhizate d'ammonium. Ce procédé, avec quelques imprécisions dans ses données, présente l'inconvénient de faire dissoudre le suc dans l'eau pure. Mais surtout, la quantité d'eau est beaucoup trop grande, ainsi que la quantité d'eau de lavage. Il y a, par contre, trop peu d'acide chlorhydrique. Les pertes sont nombreuses et la précipitation incomplète. Le résidu pesé sera toujours trop faible. Il est également impur.

b) LIQUIDE D'EXTRACTION : EAU AVEC ADDITION D'ALCOOL.

Le suc est traité par l'eau qui dissout les parties solubles et met les autres en suspension. On ajoute ensuite l'alcool qui précipite certaines impuretés, dont les gommes et les mucilages. Les proportions d'eau et d'alcool, et donc, le titre du mélange, le temps de contact, varient avec les auteurs. Le liquide est filtré, le résidu lavé et l'alcool est chassé au bain-marie. On ramène à un volume déterminé

de solution aqueuse, d'où l'on précipite l'acide glycyrrhizique. La solution alcoolique filtre rapidement et on obtient un produit plus pur. Si le titre alcoolique n'est pas trop élevé (80°), toute la glycyrrhizine est dissoute.

α) Précipitation par l'acide sulfurique.

5. Diehl [15] (1883) : (Cf. p. 44).

6. Kremel [35] (1889) : le précipité, lavé à l'eau, est dissous dans l'ammoniaque et pesé à l'état de glycyrrhizate d'ammonium. L'ensemble de la méthode est bon. Il suffirait de compléter certaines données imprécises pour obtenir des résultats utilisables.

7. Py [52] (1897) : procédé rappelant le précédent et demandant les mêmes critiques.

8. Parry [46] (1910) : (Cf. p. 45).

9. Evans Sons [20] (1910) : (Cf. p. 46).

10. Houseman [31] (1912) : (Cf. p. 47).

11. Eriksson [19] : (1910) : procédé par réduction des sels de cuivre étudié dans un autre chapitre (Cf. p. 60).

12. Gouirand [27] (1912) : dosage rappelant celui de KREMEL. Pour éviter la filtration et le lavage du résidu insoluble dans l'alcool dilué, l'auteur prélève une partie aliquote. Dans les conditions où l'on opère, celle-ci ne doit pas, d'après LINZ [38], correspondre exactement à la proportion de suc indiquée. Il y a dans le courant du dosage un contrôle de la précipitation totale des substances gommeuses, qui est considéré par LINZ comme superflu.

β. Précipitation par l'acide chlorhydrique.

13. — Gadais I [23] (1911) : (Cf. p. 53).

14. — Gadais II [23] (1911) : (Cf. p. 54).

γ. Précipitation par l'alcool absolu.

15. — Trübeck [72] (1900) : Le suc est dissous dans l'eau et l'on ajoute de l'alcool. La solution filtrée laisse par évaporation un résidu qui est mis en solution dans l'acide acétique. On précipite l'acide glycyrrhizique et ses sels par l'alcool absolu. On lave à l'alcool absolu et on pèse sur filtre taré. L'alcool absolu ne précipite pas complètement les glycyrrhizates alcalins et dissout l'acide glycyrrhizique éventuellement libre. Ce procédé mérite également d'autres reproches : le titre du mélange alcoolique est trop élevé pour dissoudre tout l'acide glycyrrhizique combiné ; la technique de dissolution dans l'acide acétique est peu réalisable ; l'acide acétique dissout certaines impuretés ; on pèse un mélange de glycyrrhizates et d'acide en proportion inconnue.

c) LIQUIDE D'EXTRACTION : EAU AMMONIACALE.

La proportion d'ammoniaque varie suivant les procédés. Nous avons vu que ce mode d'extraction présente les mêmes inconvénients que celui par l'eau pure, mais qu'il a aussi le gros désavantage d'amener la dissolution d'impuretés que l'on retrouve en partie dans le produit pesé. C'est là la critique la plus importante des dosages où intervient l'ammoniaque comme agent de dissolution.

α) Précipitation par l'acide sulfurique.

16. — Schröder [61] (1884) : on dose séparément la glycyrrhizine à l'état de glycyrrhizate d'ammonium dans les produits d'extraction par l'eau ammoniacale et par l'eau pure. On purifie par une série de dissolutions dans l'ammoniaque et de précipitations par l'acide sulfurique. Procédé aux données imprécises, n'ayant qu'un caractère historique.

17. — Müntzer [42] (1888) : le précipité d'acide glycyrrhizique purifié par dissolution dans l'ammoniaque et reprécipitation par l'acide sulfurique est pesé à l'état d'acide gly-

cyrrhizique. Ce procédé se ressent du manque de notions exactes à cette époque sur la solubilité de l'acide glycyrrhizique. De plus, il met en jeu de trop grandes quantités de liquide et manque de données précises.

18. — **Morpugo** [41] (1899) : l'originalité du procédé consiste à ajouter de l'oxalate d'ammonium après extraction par l'eau ammoniacale. L'acide est pesé à l'état de sel ammoniacal. **LINZ** [38] signale seulement ce dosage qu'il n'a pas expérimenté. L'action de l'oxalate d'ammonium n'est pas expliquée par l'auteur et **LINZ** suppose que c'est pour précipiter le calcium, ce qui libère l'acide glycyrrhizique salifié par ce métal et favorise sa dissolution. L'extraction par l'eau ammoniacale est la raison principale d'écartier ce procédé.

β) Précipitation par l'acide chlorhydrique.

19. — **Codex hollandais** (1905) : le précipité d'acide glycyrrhizique est dissous dans l'ammoniaque et pesé à l'état de glycyrrhizate d'ammonium. L'emploi de l'eau ammoniacale, joint à un lavage insuffisant, aboutit à un produit, impur, de poids trop élevé. Dans une édition plus récente de la pharmacopée hollandaise (1926) nous trouvons un autre dosage que nous étudierons plus loin.

*d) LIQUIDE D'EXTRACTION : EAU ADDITIONNÉE D'AMMONIAQUE
ET D'ALCOOL.*

La technique d'extraction varie suivant les procédés. L'extraît alcoolique ammoniacal doit être privé d'alcool par évaporation et ramené à un volume déterminé avec de l'eau. L'ammoniaque dissout des impuretés et rend moins solubles dans l'acool les combinaisons de l'acide glycyrrhizique.

α) Précipitation par l'acide sulfurique.

20. — **Kinzey** [34] (1898) : l'acide glycyrrhizique lavé à l'eau acétique est séché et pesé. Procédé inutilisable : on fait intervenir de trop grandes quantités de liquide et on

ne spécifie pas d'évaporer l'alcool avant de précipiter par l'acide sulfurique. Le lavage de l'acide glycyrrhizique à l'eau acétique est contre-indiqué.

21. — **Anselmino-Gilg** [2] (1911) : l'acide glycyrrhizique précipité est pesé à l'état de glycyrrhizate d'ammonium. L'auteur emploie de trop grandes quantités de liquide de lavage.

β) Précipitation par l'acide chlorhydrique.

22. — **Stöder** [64] (1901) : le principe de ce procédé est semblable au précédent. Les quantités mises en œuvre sont différentes et on emploie l'acide chlorhydrique comme agent de précipitation. Les données sont incomplètes, le lavage du précipité est insuffisant.

23. — **Telle** [65] (1911) : le précipité, lavé à l'eau étherée, est pesé à l'état de glycyrrhizate d'ammonium. Les données sont complètes et précises. Avec quelques détails, on reproche l'emploi d'ammoniaque et la longueur du procédé.

24. — **Durier** [17] (1913) : le précipité est pesé à l'état d'acide glycyrrhizique et on fait intervenir une correction de solubilité. Les quantités de liquide sont trop importantes, le produit pesé n'est pas suffisamment desséché et la valeur du coefficient de solubilité est critiquable.

e) LIQUIDE D'EXTRACTION : ALCOOL-ACIDE SULFURIQUE.

Nous avons vu que ce mode d'extraction est correct, mais moins pratique que l'emploi de l'eau additionnée d'alcool. La solution alcoolique d'acide glycyrrhizique est évaporée en présence d'ammoniaque ; le résidu est amené avec de l'eau à un volume déterminé et on précipite la glycyrrhizine dans cette solution par l'acide sulfurique.

25. — **Haffner** [28] (1899) : on extrait le suc par de l'alcool en présence d'acide sulfurique. On évapore l'alcool après addition d'ammoniaque et on ramène l'extrait à un volume connu de solution aqueuse, à laquelle on ajoute de

l'acide sulfurique. Le précipité est lavé, séché et dissous dans l'acétone. On évapore cette solution en présence de carbonate de baryum et on dissout dans l'eau le glycyrrhizate de baryum. On évapore et on pèse. Sur le résidu, on dose le baryum par calcination en présence d'acide sulfurique et on calcule la teneur en baryum du résidu sec de glycyrrhizate de baryum. « Plus la teneur en baryum est élevée, plus pure est la préparation pesée. »

LINZ résume ainsi ses critiques :

1^o Dosage plus détaillé que les précédents ;

2^o Résultats numériques moindres que ceux que l'on pouvait attendre d'après ceux des autres travaux, mais concordant bien ;

3^o Il n'y a pas de preuve de cause d'erreur, mais il semble qu'il se produise des pertes ;

4^o Le critérium de pureté ne se justifie pas dans tous les cas. Les impuretés de l'acide glycyrrhizique sont acides et se combinent certainement au baryum.

De ce dosage, il faut retenir l'extraction du suc par l'alcool acide.

26. — Cederberg [12] (1907) : l'acide glycyrrhizique lavé à l'acide sulfurique dilué est dissous dans l'alcool. On ajoute à cette liqueur alcoolique de l'eau et de la potasse. Une partie connue de la solution est évaporée. Le résidu de sulfate de potassium et de glycyrrhizate de potassium est pesé. Sur une autre partie, on détermine le sulfate de potassium par pesée à l'état de sulfate de baryum. On déduit le pourcentage en acide glycyrrhizique. Ce procédé fait précipiter l'acide glycyrrhizique d'une trop grande quantité d'eau, ce qui amène des pertes importantes. La technique de dosage du sulfate de potassium ne donne pas de bons résultats. Mais surtout c'est un dosage long exigeant beaucoup d'alcool et aboutissant à un produit très impur.

27. — Schmidt [60] (1911) : (Cf. p. 55).

*Etude des méthodes pondérales
retenues par Linz et de celles publiées depuis 1916.*

Nous étudierons ces dosages en les classant suivant un ordre semblable à celui de LINZ et qui sera le suivant :

- a) Liquide d'extraction : eau ammoniacale.
 - α. Avec addition d'alcool : 1. **Fromme** ;
 - β. Sans addition d'alcool : 2. **Astruc et Pichard (Codex Français 1937)**.
- b) Liquide d'extraction : eau avec addition d'alcool.
 - α. Précipitation à l'état de sel de cuivre : 3. **Lehmann**.
 - β. Précipitation par l'acide sulfurique :
4. **Diehl**, 5. **Parry**, 6. **Evans Sons**, 7. **Houseman (1912)**.
8. **Linz**, 9. **Houseman (1921)**, 10. **Codex hollandais (1926)**.
 - γ. Précipitation par l'acide chlorhydrique.
- 11. **Gadais I**. 12. **Gadais II**.
- c) Liquide d'extraction alcool-acide sulfurique.
13. **Schmidt**, 14. **Peyer**.

Nous avons essayé ces procédés sur un même suc, pulvérisé, non desséché et soigneusement conservé à l'abri de l'humidité.

a) LIQUIDE D'EXTRACTION : EAU AMMONIACALE.

α. *Addition d'alcool à l'eau ammoniacale.*

1. — **Fromme [22] (1924)** :

« 10 gr. de suc, 10 gr. d'eau et 2 gr. d'ammoniaque sont mis dans une capsule de porcelaine d'environ 10 cm. de diamètre et chauffés doucement jusqu'à ce que le suc soit complètement délayé. Le mélange est ensuite versé, soit dans un vase jaugé de 100 cm³ et complété avec de l'eau jusqu'à la marque, soit dans un flacon de 200 gr. et complété avec de l'eau à 103 gr. Cette solution est placée de côté

au moins vingt-quatre heures. Décanter, en filtrant au besoin.

25 cm³ du filtrat, soit 2 gr. 5 de suc sont évaporés au bain-marie à 10 ou 12 gr. et la solution concentrée est filtrée et versée en agitant dans une capsule de porcelaine contenant 30 cm³ d'alcool fort et 2 cm³ d'acide sulfurique dilué (1/5). Ce qui reste dans la capsule d'évaporation est rassemblé avec une goutte d'ammoniaque. Ajouter 5 cm³ d'alcool, aciduler avec q. s. d'acide sulfurique dilué et verser sur le filtre lorsque tout le liquide précédent est filtré. La capsule et le contenu du filtre sont lavés avec de l'alcool de façon à compléter le filtrat à 50 cm³.

Alcaliniser ce filtrat avec de l'eau ammoniacale et évaporer au bain-marie à 10 cm³ dans une capsule en agitant souvent. Après refroidissement, aciduler le liquide avec q. s. d'acide sulfurique dilué (1 + 4) en agitant. Après repos de plusieurs heures, le mélange est filtré sur un filtre de 6 à 7 cm. de diamètre, préalablement séché et taré. Ce qui reste dans la capsule est rassemblé avec un peu d'eau et une goutte d'ammoniaque, acidulé de nouveau avec de l'acide sulfurique dilué et amené sans perte sur le filtre. Laver celui-ci et son contenu en plusieurs fois avec de l'eau de façon à obtenir 50 cm³ de filtrat au total.

Le contenu du filtre est alors traité par un mélange de 2 gr. d'ammoniaque et 15 gr. d'eau. Laver le filtre à l'eau ammoniacale jusqu'à ce que celle-ci filtre incolore. Évaporer cette solution ammoniacale au bain-marie, sécher le résidu à 100° jusqu'à poids constant, laisser reposer une demi-heure à l'exsiccateur et peser. A la quantité obtenue, il faut ajouter 0,006 gr. de glycyrrhizine (comme restant dissoute dans le filtrat) pour chaque portion de 10 cm³ de filtrat. La quantité obtenue multipliée par 40 donne le pourcentage. »

Ce procédé n'apporte rien de nouveau. L'emploi d'eau ammoniacale amène la dissolution d'impuretés et l'obtention d'un produit noir de poids trop élevé. La solution alcoolique est évaporée à 10 cm³, ce qui est insuffisant pour chasser tout l'alcool. Aussi une partie de l'acide gly-

cyrrhizique reste en solution, lors de la précipitation par l'acide sulfurique. C'est à cette cause qu'il faut principalement attribuer l'inconstance des résultats suivants qui sont tous trop forts :

16,20 18,36 19,18 et 20,24 %.

β. Pas d'addition d'alcool à l'eau ammoniacale.

2. — Astruc et Pichard [4 et 51] (1918) :

C'est le procédé admis au **Codex 1937**, qui en donne le texte suivant :

« Dissolvez 3 gr. de suc de réglisse, préalablement desséché à 100°, dans 30 cm³ d'eau distillée additionnée de V gouttes d'ammoniaque. Filtrez et recueillez 20 cm³ de filtrat correspondant à 2 gr. de produit desséché. Ajoutez à ce filtrat 2,5 cm³ d'acide sulfurique officinal. Laissez en contact vingt-quatre heures. Décantez sur un filtre à plis le liquide limpide. Lavez le résidu avec 30 cm³ d'eau distillée employés en plusieurs fois, en vous servant de ce liquide pour laver le filtre. Dissolvez le résidu avec 2 cm³ d'ammoniaque et filtrez la solution sur le filtre. Lavez la fiole et le filtre avec de l'eau distillée contenant V gouttes d'ammoniaque pour 10 cm³ jusqu'à ce que le liquide filtre incolore. Evaporez le filtrat au bain-marie dans un cristalliseur taré que vous placerez à l'étuve à 100° pendant une heure. Pesez. Au poids de glycyrrhizine ainsi obtenu, ajoutez la quantité correspondant à l'acide glycyrrhizique dissous dans les eaux-mères et les eaux de lavage (40 cm³ au total), soit 0,04 gr. Le chiffre obtenu correspond à la quantité de glycyrrhizine contenue dans 2 gr. de produit. Calculez le pourcentage ».

Les auteurs se sont efforcés d'éviter toutes les possibilités de pertes : ils emploient l'eau ammoniacale pour être plus certains de dissoudre toute la glycyrrhizine et ils font une correction de solubilité. Mais ils ne semblent pas s'être préoccupés de la pureté du produit pesé, qui est noir. A cette principale critique, il faut en ajouter d'autres ; la diffi-

culté de la filtration (dans un des essais de ce dosage, nous n'avions pas encore obtenu 20 cm³ de filtrat après 48 heures) ; l'erreur que l'on peut faire en prenant une partie aliquote, 20 cm³ ne correspondant pas obligatoirement à 2 gr. de suc ; la difficulté du lavage du précipité d'acide glycyrrhizique par décantation.

Les nombres trouvés, évidemment trop élevés, concordent bien : 22,3 et 22,4 %.

b) LIQUIDE D'EXTRACTION : EAU AVEC ADDITION D'ALCOOL.

α) *L'acide glycyrrhizique est précipité
par les sels de cuivre.*

3. — **Lehmann** [37] (1934) :

Le suc est extrait suivant la technique de LINZ de façon à obtenir finalement une solution de 50 cm³ contenant les principes solubles de 5 gr. de suc.

« 10 cm³ de cette solution (soit 1 gr. de suc) sont additionnés de 25 cm³ de solution de sulfate de cuivre (Fehling I) et complétés à 100 cm³ en vase jaugé. Le glycyrrhizate de cuivre se dépose en un volumineux précipité. Après repos d'une demi-heure, le liquide clair surnageant le précipité et le précipité lui-même, sont amenés sur un filtre spécial que l'on a d'abord calciné, séché à l'exsiccateur et taré exactement. Le liquide est alors essoré à la trompe et le résidu restant dans le filtre, c'est-à-dire, le glycyrrhizate de cuivre, est lavé avec deux fois 10 cm³ d'eau. Il est ensuite séché à poids constant à l'étuve à 105-110° et pesé. De la différence entre la tare du filtre (1) et le poids du filtre + résidu sec (2), on déduit le poids du précipité de glycyrrhizate de cuivre (3). Le filtre est alors calciné et la substance organique, c'est-à-dire, l'acide glycyrrhizique, brûle ; les impuretés non organiques, dans le cas où elles seraient présentes (par exemple, sulfate de calcium ou phosphate de calcium) sont pesées sur le filtre avec l'oxyde de cuivre et ainsi, sont sans influence sur le résultat. Le poids du filtre + CuO est déterminé après la calcination (4). La valeur de l'oxyde de cuivre

restant se déduit de la différence 4-1 (5) et est calculée en

$$\text{cuivre (6)} : \frac{\text{Cu}}{\text{CuO}} = \frac{79,6}{63,6}.$$

Par calcination, une partie du cuivre pourrait être réduite par le charbon en cuivre métallique. Mais comme il ne s'agit que de quantités minimes de cuivre, on ne s'occupe pas de réoxyder le cuivre réduit, ce qui serait naturellement possible.

Des valeurs ainsi obtenues, on déduit le poids de glycyrrhizate de cuivre (3-6) et l'on obtient le poids de l'acide glycyrrhizique brûlé (7), qui, multiplié par 100, donne le pourcentage en acide glycyrrhizique. »

Nous n'avons pas pu utiliser cette technique, faute d'avoir à notre disposition le creuset filtrant décrit par LEHMANN. En essayant de lui substituer le creuset classique de GOOCH, les résultats ont été inacceptables.

L'acide glycyrrhizique est précipité par un acide minéral.

Toutes les méthodes proposées sont basées sur le procédé de DIEHL [15] et ne diffèrent entre elles que par des détails : purification du produit, correction de solubilité... La plupart des auteurs emploient l'acide sulfurique comme agent de précipitation. Seul, GADAIS [23], utilise l'acide chlorhydrique.

β) Précipitation par l'acide sulfurique.

Nous étudierons ces dosages dans l'ordre chronologique.

4. — Diehl [15] (1883) :

« 10 gr. de suc sont mis à digérer dans un flacon avec 10 cm³ d'eau distillée jusqu'à mise en suspension complète ; après refroidissement, ajouter 200 cm³ d'alcool et laisser reposer plusieurs heures en agitant souvent. Filtrer ensuite sur un double filtre et laver le résidu avec un mélange d'alcool et d'eau (2 + 1) jusqu'à ce que le filtrat s'écoule incolore. Le filtrat alcoolique est évaporé en sirop épais, dissous dans l'eau et additionné d'acide sulfurique

aussi longtemps qu'il se forme encore un précipité. La glycyrrhizine, lavée à l'eau, séchée à l'air, est dissoute dans de l'alcool fort. La solution alcoolique de l'acide est filtrée, le filtre est lavé à l'alcool et le filtrat est évaporé à sec. Le résidu est dissous dans l'ammoniaque, évaporé en vase taré, séché et pesé. »

D'après LINZ [38], il manque des données précises sur le temps de précipitation de l'acide glycyrrhizique et sur les quantités de réactifs. La redissolution dans l'alcool de l'acide précipité est très recommandable, surtout en faisant sécher d'abord le précipité. La dissolution dans l'ammoniaque qui termine le dosage n'est pas utile. Ce dosage ne pourrait être utilisé qu'en complétant les données ; il fournirait alors de bons résultats. Son principal intérêt vient de ce que c'est le premier procédé de ce type qui ait été publié. Dans la série des dosages basés sur le même principe, la plupart sont acceptables sans modification, car ils aboutissent à l'obtention d'un produit assez pur et les pertes ne sont pas trop élevées.

5. — Parry [46] (1910) :

« Peser 2,50 gr. de suc dans un petit Becher, ajouter 15 cm³ d'eau chaude, couvrir avec un verre de montre et chauffer au bain-marie en agitant jusqu'à dissolution complète. Après refroidissement, verser lentement, en agitant, 25 cm³ d'alcool à 80°. Puis ajouter 50 cm³ d'alcool à 95° et laisser reposer environ une demi-heure, en couvrant le vase. Filtrer, laver avec de l'alcool à 80° jusqu'à ce que le filtrat passe incolore. Transvaser le filtrat et les eaux de lavage dans un vase et distiller la plus grande partie de l'alcool, ou bien jusqu'à ce qu'il reste assez de liquide pour le transvaser dans une petite capsule. Evaporer à consistance sirupeuse ou bien jusqu'à ce que tout l'alcool soit chassé. Verser dans un vase gradué à 30 cm³ et compléter à la marque avec de l'eau. Ajouter lentement en agitant constamment 3 cm³ d'acide sulfurique dilué (10 cm³ pour 300 cm³ d'eau) ; laisser reposer une nuit à la température de 55 à 60° F. Décanter le liquide surnageant. Laver quatre fois le préci-

pité avec de l'eau glacée et le dissoudre dans un peu d'alcool dilué avec deux gouttes d'ammoniaque pour neutraliser les traces d'acide sulfurique et évaporer à siccité dans une capsule de porcelaine tarée. Sécher à poids constant à l'étuve. »

Il manque quelques précisions, en particulier sur la quantité d'eau de lavage. Le titre de la solution alcoolique (80°) est le plus élevé que l'on puisse employer pour dissoudre toute la glycyrrhizine. Les résultats sont un peu faibles car les pertes sont relativement importantes : 8,52 et 8,8 %.

6. Evans Sons, Lescher and Webb [20] (1910) :

Les auteurs proposent une modification de la méthode de PARRY :

« Peser 2,5 gr. de suc pulvérisé dans un petit Becher. Ajouter 15 cm³ d'eau et chauffer au bain-marie jusqu'à dissolution. Après refroidissement, ajouter peu à peu en agitant 23 cm³ d'alcool dénaturé avec 2 cm³ d'eau, puis 50 cm³ d'alcool dénaturé. Laisser reposer trente minutes, filtrer et laver le Becher et le filtre avec 50 cm³ d'alcool dénaturé additionné de 4 cm³ d'eau. Evaporer les liqueurs alcooliques sur un bain-marie jusqu'à consistance sirupeuse. Transvaser dans un vase cylindrique à l'aide de 30 cm³ d'eau. Refroidir dans la glace fondante et ajouter 3 cm³ d'acide sulfurique (1/30) en agitant ; congeler dans un mélange sel-glace. En fondant peu à peu, la glycyrrhizine forme une masse compacte dans le fond du vase. Laver par décantation avec 50 cm³ d'eau à 0°, décanter autant que possible. Ajouter 2 cm³ d'eau ammoniacale, et amener le précipité avec de l'alcool absolu dans un cristalliseur taré. Evaporer et sécher à 100° jusqu'à poids constant. »

Les titres alcooliques correspondent à ceux du dosage de PARRY [46]. Le temps de contact de trente minutes pour précipiter les gommés et mucilages est insuffisant. Il est excellent en principe d'opérer à 0°, mais pas dans les conditions indiquées par l'auteur. Enfin on peut supprimer le traitement final par l'alcool absolu. Ce procédé est rapide. Comme pour le précédent, et pour la même raison, les résultats sont un peu faibles : 9,32 et 9,38 %.

7. Houseman [31] (1912) :

« 2 gr. de suc sont dissous dans 10 cm³ d'eau chaude dans un tube à centrifuger. Après refroidissement, ajouter, en agitant, 20 cm³ d'alcool à 80° et 50 cm³ d'alcool à 95°. Laisser reposer deux heures, temps suffisant pour précipiter l'amidon et les matières gommeuses. Centrifuger, décantier la liqueur claire, agiter avec de l'alcool à 80° et centrifuger. Cette opération est répétée trois fois en tout. La liqueur alcoolique est évaporée à siccité dans le vide sur un bain-marie. Le résidu est ensuite transvasé dans un petit Erlenmeyer avec 30 cm³ d'eau et après refroidissement à 15° l'acide glycyrrhizique est précipité avec 3 cm³ d'acide sulfurique dilué (10 cm³ acide sulfurique concentré dans 300 cm³ d'eau). Laisser reposer deux heures à environ 10°; (il n'est pas nécessaire de laisser douze à vingt-quatre heures comme on le recommande habituellement, car cela donne des résultats plus faibles), puis refroidir une demi-heure dans la glace et verser sur un petit filtre la liqueur claire surnageant. La glycyrrhizine est lavée quatre fois par décantation avec de l'eau glacée dans laquelle elle est pratiquement insoluble. La glycyrrhizine restant dans l'Erlenmeyer ainsi que celle que l'on a pu entraîner sur le filtre est dissoute dans l'alcool dilué. Ajouter 11 gouttes d'ammoniaque à 5 % pour neutraliser les traces d'acide sulfurique. Verser la solution dans un vase taré, évaporer et peser la glycyrrhizine brute ».

Le titre de la solution alcoolique est le même que dans les dosages précédents. L'auteur considère comme nécessaire d'éliminer toute trace d'alcool en évaporant jusqu'à siccité. Le dosage est rapide et utilisable en précisant certaines données. Les chiffres sont encore un peu faibles : 9,52 et 9,55 %.

Les trois dosages précédents sont très voisins. Ils sont utilisables, mais on pourra leur reprocher de ne pas s'attacher assez à éviter les pertes. EVANS SONS [20] précipite l'acide dans 30 cm³ de solution et lave avec 50 cm³ d'eau glacée. C'est le seul qui donne de telles précisions. Aussi

sommes-nous amenés à la méthode de Linz qui résout le problème des pertes en les récupérant.

8. — Linz [38] (1916) :

« 5 gr. de suc sont extraits, à douce température et en agitant souvent, par 50 gr. d'eau distillée, jusqu'à mise en suspension complète et après refroidissement, additionnés de 100 cm³ d'alcool (95°). Après repos de six heures, on filtre, et le résidu insoluble sur le filtre est lavé peu à peu avec 50 cm³ d'alcool à 60° employés par petites quantités. Filtrat et eaux de lavage sont débarrassés d'alcool au bain-marie et évaporés dans une capsule à environ 30 cm³. Ce résidu est transvasé dans un Erlenmeyer, qui porte une marque pour 50 cm³, la capsule est lavée avec de l'eau, et le contenu du vase est complété à la marque. On acidule en agitant avec 5 cm³ d'acide sulfurique dilué et on laisse reposer une heure à la température de la pièce, puis vingt-quatre heures sur la glace. L'acide rassemblé au fond est amené quantitativement sur un filtre et lavé sur le filtre soigneusement avec 15 cm³ d'acide sulfurique à 2 % à 0°, puis avec 15 cm³ d'eau saturée d'éther, refroidie sur la glace. Le filtre est séché à l'exsiccateur à vide sur acide sulfurique à la température de la pièce et ensuite traité par cinq extractions dans l'Erlenmeyer avec de l'alcool à 90° chaud en quantités successives de 20, 20, 10, 10, 10 cm³. Les solutions sont filtrées dans un cristalliseur taré, le filtre est lavé avec 15 cm³ d'alcool chaud et le filtrat évaporé au bain-marie. Après dessiccation à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant, on pèse.

Le liquide décanté du précipité d'acide est réuni aux eaux de lavage et, après saturation avec l'ammoniaque, est évaporé en un sirop épais. Celui-ci est transvasé dans un cylindre de verre, qui porte une marque pour 18 cm³. Après lavage de la capsule d'évaporation, on complète à 18 cm³ et on ajoute en agitant 2 cm³ d'acide sulfurique dilué. Après une heure à la température de la pièce on laisse reposer vingt-quatre heures sur la glace. Le liquide surnageant est alors décanté, le précipité est amené sur un filtre et lavé très soigneusement avec 5 cm³ d'acide sulfurique à

2 % et 10 cm³ d'eau glacée saturée d'éther. Le résidu, séché à l'exsiccateur à vide sur acide sulfurique, est extrait à chaud avec 10,10,5 cm³ d'alcool (95°). Les extraits sont filtrés dans un cristalliseur taré, le filtre est lavé avec 5 cm³ d'alcool chaud et le filtrat évaporé au bain-marie. La valeur déterminée après dessiccation est ajoutée à celle obtenue plus haut. La somme représente la teneur totale en acide glycyrrhizique de 5 gr. de suc. »

Commentant son procédé, l'auteur dit qu'il a tenu compte des nécessités pratiques. Il considère que le lavage de la portion de suc insoluble dans l'alcool n'a pas besoin d'être poussé jusqu'à ce que l'alcool de lavage soit complètement incolore. Il existe en effet, des impuretés dont le pouvoir colorant est très grand et il vaut mieux indiquer une quantité déterminée d'alcool qui suffira si le lavage est bien fait. De plus, il est préférable de peser à l'état d'acide glycyrrhizique, la transformation en sel d'ammoniaque prenant un temps supplémentaire et amenant une petite surcharge par saturation des traces d'acide sulfurique pesées avec l'acide glycyrrhizique. Enfin, la longueur du procédé se justifie par le fait que l'on obtient un produit plus pur et de poids plus élevé que dans les dosages précédents du même type.

HOUSEMAN [32] adresse quelques critiques à LINZ, tout en étant d'accord sur l'ensemble de la méthode :

1° La précipitation des gommés et mucilages se fait par de l'alcool à 65° et le lavage avec de l'alcool à 60°. L'emploi d'un alcool à 75°, aurait l'avantage, tout en dissolvant complètement la glycyrrhizine, de précipiter mieux les substances étrangères ce qui n'est pas sans influence sur la pureté de l'acide pesé.

2° LINZ fait évaporer la solution alcoolique à 30 cm³, ce qui est insuffisant pour chasser tout l'alcool. Aussi, lors de la précipitation par l'acide sulfurique, une partie de l'acide glycyrrhizique reste en solution. D'où une cause d'erreur importante, car la technique de récupération des pertes indiquée dans la suite du dosage, ne donne de bons résultats que si la presque totalité de l'acide glycyrrhizique a

déjà été recueillie. HOUSEMAN veut faire évaporer à sec en terminant dans le vide. Nous pensons qu'il suffit de concentrer à consistance pâteuse.

3° LINZ fait précipiter l'acide glycyrrhizique par l'acide sulfurique dilué sans spécifier à quelle dilution.

4° Il n'est pas nécessaire de faire sécher le précipité d'acide glycyrrhizique à l'exsiccateur avant de le dissoudre dans l'alcool à 95°. Nous avons indiqué précédemment l'influence de cette dessiccation à propos de la pureté du produit pesé ; nous la considérons comme utile si l'on traite l'acide glycyrrhizique par un solvant sur le filtre, mais sans intérêt si l'on opère dans un tube à centrifuger.

D'autre part, la quantité d'alcool indiquée est insuffisante pour dissoudre tout l'acide sur le filtre.

5° Il est inutile de peser séparément les deux précipités.

Ajoutons que la longueur du dosage et le grand nombre d'opérations entraînent facilement des erreurs. Signalons en particulier que le lavage des filtres est délicat, si l'on veut éviter toute perte. Aussi sommes-nous amenés à chercher une simplification de la technique de LINZ ; c'est le but de HOUSEMAN.

Résultats : 8,95 ; 10,25 et 10,77 %.

9. Houseman [32] (1921) :

Le dosage exactement calqué sur celui de LINZ est plus simple et la première amélioration est l'emploi de la centrifugation.

« Laisser reposer 2 gr. de suc avec 15 cm³ d'eau une nuit à la température de la pièce dans un tube à centrifuger de 100 cm³. Agiter ensuite jusqu'à désintégration complète. Ajouter en agitant 15 cm³ d'alcool à 75° et 53 cm³ d'alcool à 95°, pour précipiter l'amidon et les gommes, ce qui donne un mélange total contenant de l'alcool à 75°, lorsque le suc contient 25 % d'humidité. Laisser reposer au moins trois heures, centrifuger. Verser la solution limpide dans un vase, et agiter le dépôt avec 75 cm³ environ d'alcool à 75°, centrifuger à nouveau et décanner. Agiter une seconde fois le résidu insoluble avec 75 cm³ d'alcool à 75°, centrifuger

et décanner. Réunir les trois liqueurs et les évaporer à sec sur un bain-marie, de préférence en terminant dans le vide, et en récupérant l'alcool. Dissoudre le résidu dans 100 cm³ d'eau chaude, filtrer la solution sur un petit filtre dans un tube à centrifuger jaugé à 30 cm³, laver le vase et le filtre et compléter à la marque.

Refroidir le filtrat à 15° et précipiter la glycyrrhizine avec 3 cm³ d'acide sulfurique à 10 % en poids. Laisser le tube une nuit à la glacière et ensuite le plonger une demi-heure dans la glace pilée. Centrifuger et décanner le liquide clair. Agiter le précipité avec 5 cm³ d'eau glacée saturée d'éther, centrifuger à nouveau et décanner la solution limpide. Agiter à nouveau le résidu insoluble avec 5 cm³ d'eau étherée glacée, centrifuger, et décanner le liquide clair aussi complètement que possible. Garder le tube froid durant l'opération ; toute la glycyrrhizine est retenue dans le tube. Ajouter 30 cm³ d'alcool à 95° chaud et mettre de côté cette solution pour l'ajouter plus tard à la solution du second précipité de glycyrrhizine. Pour obtenir celui-ci, réunir le filtrat et les deux eaux de lavage, neutraliser avec de l'ammoniaque, évaporer à environ 5 cm³, transvaser dans un tube à centrifuger, compléter à 10 cm³, refroidir et précipiter avec 2 cm³ d'acide sulfurique à 10 %. Après repos d'une nuit, plonger le tube une demi-heure dans de la glace, centrifuger et décanner. Agiter la glycyrrhizine avec 5 cm³ d'eau étherée glacée, centrifuger et décanner. Laver une seconde fois avec 3 cm³ d'eau étherée glacée. Dissoudre le précipité de glycyrrhizine dans 10 cm³ d'alcool à 95° chaud. Réunir les deux solutions de glycyrrhizine et les filtrer dans un cristalliseur taré. Laver les tubes et le filtre avec de l'alcool à 95° chaud et verser les eaux de lavage dans le cristalliseur. Neutraliser les traces d'acide sulfurique avec deux gouttes d'ammoniaque à 5 %. Evaporer la solution à siccité et peser la glycyrrhizine après l'avoir séchée une nuit à 100° ».

HOUSEMAN fait faire l'extraction alcoolique dans un tube à centrifuger de 100 cm³. Nous avons utilisé un vase ordi-

naire, car nous ne disposions pas d'une centrifugeuse aussi grande et nous avons centrifugé par petites portions après le temps de contact prescrit. L'ensemble du procédé est bon, il donne des résultats assez constants et le produit pesé est assez pur. L'extraction du suc par l'alcool à 75° semble complète. Le résidu insoluble, repris par l'eau ammoniacale, donne un liquide insipide, qui ne fournit qu'une très légère coloration au réactif sulfo-vanillique. Il ne contient pas, ou tout au plus des traces, de glycyrrhizine. C'est ce procédé que nous aurions retenu, si nous n'avions pensé qu'il est possible de le simplifier sans nuire au résultat. Aussi le reprendrons-nous plus loin.

Résultats numériques : 8,95 ; 9,07 ; 9,17 et 9,57 %.

10. Codex hollandais [44] (1926) :

« Le suc doit contenir au moins 8 % de glycyrrhizine que l'on dose comme suit :

Ajouter à une solution de 5 gr. de suc dans 50 cm³ d'eau, de l'alcool à 90° q. s. p. 100 cm³. Filtrer. Evaporer 60 cm³ de filtrat en ajoutant quelques gouttes d'ammoniaque de façon à obtenir finalement 15 cm³. Laisser refroidir. Ajouter 10 cm³ d'acide sulfurique dilué (20 %) et de l'eau q. s. p. 50 cm³. Rassembler le précipité sur un petit filtre. Laver en plusieurs fois avec 15 cm³. d'eau, sécher et peser. Le poids doit être au moins de 240 mgr. »

Ce procédé a l'avantage d'être rapide et il donne des résultats satisfaisants. Pourtant nous signalerons deux causes d'erreur agissant en sens contraire : la précipitation de l'acide glycyrrhizique n'est pas complète, car l'alcool n'est pas complètement évaporé et il n'est pas indiqué de temps de repos entre l'addition de l'acide sulfurique et la filtration ; les pertes sont importantes dans les 50 cm³ d'eaux mères et les 15 cm³ d'eaux de lavage. Erreur par excès d'autre part, car il n'y a pas de purification de l'acide glycyrrhizique par l'alcool ou par l'acétone. L'efficacité du lavage est contrôlée par l'absence de noircissement du filtre à l'étuve si l'on a éliminé tout l'acide sulfurique.

Résultats numériques : 10,83 ; 10,93 et 11 %.

γ) Précipitation par l'acide chlorhydrique.

11. **Gadals I** [23] (1911).

« Peser 5 gr. de suc pulvérisé ou en copeaux ; prendre un Becherglass de 300 cm³, portant un trait à 50 cm³ ; y jeter les 5 gr. de suc et remplir d'eau bouillante jusqu'à 50 cm³ ; agiter jusqu'à dissolution parfaite ; laisser refroidir ; compléter le volume jusqu'à 50 cm³ et ajouter 100 cm³ d'alcool à 95°, en agitant ; abandonner pendant vingt-quatre heures, en couvrant le Becherglass ; décantier le liquide alcoolique limpide dans une capsule en porcelaine de 250 à 300 cm³ ; lorsque le dépôt des gommés, matières mucilagineuses, albuminoïdes, etc..., apparaît, filtrer sur un petit filtre sans plis ; recevoir le filtratum dans la même capsule en porcelaine ; laver le Becher, le filtre et le dépôt trois fois avec 15 cm³ d'alcool dilué (2 volumes d'alcool à 95° et 1 volume d'eau distillée), en recevant toujours les liqueurs de lavage dans la capsule de porcelaine ; lorsque tous les liquides (liqueurs mères et de lavage) sont réunis dans la capsule, évaporer au bain-marie jusqu'à 25 cm³ ; laisser refroidir ; prendre un Becherglass de 100 cm³, porteur d'un trait à 50 cm³ et taré, après avoir été séché à 100° ; y transvaser les 25 cm³ ci-dessus ; laver à fond la capsule avec 25 cm³ d'eau distillée, qu'on ajoute aux 25 cm³ qui se trouvent déjà dans le Becher ; amener le volume du liquide exactement à 50 cm³, s'il ne s'y trouve pas ; ajouter 5 cm³ d'eau distillée contenant 1,8 cm³ d'acide chlorhydrique à 22° Baumé ; agiter et abandonner pendant douze heures de façon que le précipité formé adhère bien au vase ; décantier le liquide surnageant le dépôt ; laver le précipité et le Becher trois fois avec 10 cm³ d'eau distillée refroidie à 2° ; ces lavages terminés, ajouter 0,5 cm³ d'ammoniaque à 22° Baumé (D = 0,922) et sécher à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant.

L'augmentation de poids du Becher, multipliée par 20, donne le pour 100 de glycyrrhizine à l'état de glycyrrhizine ammoniacale ».

La technique est précise et complète ; **Linz** [38] ne fait

que quelques critiques de détail : il n'est pas suffisant d'évaporer la solution alcoolique de suc à 25 cm³ pour chasser tout l'alcool ; surtout, l'acide chlorhydrique ne précipite pas complètement l'acide glycyrrhizique dans les conditions indiquées et, après filtration, l'acide sulfurique donne encore un louche.

Résultat numériques : 12, 10 et 12, 27 %.

12. — Gadais, II, [13] (1911) :

Ce procédé est une modification de la technique précédente pour rendre plus rapide le dosage. Le temps de contact du suc avec l'alcool est plus court, et on prélève une partie aliquote :

« On pèse 10 gr. de suc ; on les introduit dans un ballon jaugé de 301 cm³, portant un trait à 100 cm³, on verse dans le ballon de l'eau bouillante jusqu'au trait 100 cm³, et l'on fait dissoudre le suc ; on laisse refroidir ; on complète le volume à 100 cm³ ; on ajoute 170 cm³ environ d'alcool à 95° en agitant ; le mélange s'échauffe ; on le refroidit sous un filet d'eau froide ; on complète le volume jusqu'à 301 cm³ avec de l'alcool à 95° ; on agite énergiquement, et l'on transvase dans une fiole conique qu'on bouche hermétiquement ; on laisse les gommés, mucilages, matières albuminoïdes se déposer ; au bout de deux heures, on décante le liquide limpide, qui surnage le dépôt, dans un ballon jaugé de 150 cm³ ; dès que les premiers flocons de dépôt apparaissent, on fait passer sur un filtre plissé de 0 m. 19 de diamètre ; on reçoit le filtratum dans le ballon de 150 cm³ et l'on ajoute de l'eau sur le filtre jusqu'à ce que ce volume soit atteint ; on transvase le contenu du ballon dans une capsule en rinçant soigneusement le ballon ; on concentre le liquide au bain-marie jusqu'à 25 cm³, et l'on continue comme pour la précédente méthode de dosage de la glycyrrhizine ».

Les résultats (12,20 et 12,26 %) sont voisins des précédents et prouvent que, pratiquement, les deux procédés proposés par GADAIS sont sensiblement équivalents.

c) LIQUIDE D'EXTRACTION : ALCOOL-ACIDE SULFURIQUE.

13. Schmidt [60] (1911) :

« Chauffer doucement quelques heures, suivant les indications de HAFFNER [28], 10 gr. de suc pulvérisé, avec un mélange de 200 cm³ d'alcool à 95° et 25 cm³ d'acide sulfurique normal. Filtrer et laver la partie insoluble avec de l'alcool chaud contenant un peu d'acide sulfurique jusqu'à ce que le filtrat ne soit plus coloré. Ajouter alors au filtrat 100 cm³ d'eau et de l'ammoniaque jusqu'à réaction alcaline et évaporer jusqu'à complète disparition de l'alcool. Le résidu est de nouveau alcalinisé à l'ammoniaque; diluer à environ 100 cm³, filtrer la solution et aciduler en agitant avec de l'acide sulfurique dilué. Après repos d'une heure, rassembler la glycyrrhizine précipitée sur un filtre taré, laver d'abord avec de l'acide sulfurique à 2 % jusqu'à ce que le filtrat soit incolore, puis avec une petite quantité d'eau froide; sécher enfin à 100° jusqu'à poids constant. »

L'auteur indique que ce dosage donne des résultats approchés et qu'on ne possède pas encore de méthode exacte de dosage de la glycyrrhizine.

Les données ne sont pas complètes, mais le principe de la méthode reste bon. L'auteur reprend le procédé de HAFFNER pour l'extraction du suc, mais termine le dosage d'une façon plus classique. L'inconvénient principal, que nous avons déjà signalé, réside en ce qu'il se forme un précipité assez abondant lorsqu'on évapore l'alcool de la solution de suc. On reprend par l'eau, on filtre et on lave ce précipité. Celui-ci retient de la glycyrrhizine et il est difficile dans certains cas de l'en débarrasser entièrement sans employer de grandes quantités d'eau. Nous avons fait deux dosages, en complétant les données suivant les indications de LINZ [38], c'est-à-dire en précipitant l'acide glycyrrhizique par 10 cm³ d'acide sulfurique dilué et en lavant le précipité avec 20 cm³ d'acide sulfurique à 2 % et 20 cm³ d'eau. Nous avons obtenu 11,95 et 11,54 %. Nous avons

continué à laver le précipité à l'eau jusqu'à obtention d'un liquide incolore et dans cette solution nous avons dosé la glycyrrhizine comme dans le premier cas. Nous avons respectivement trouvé 0,57 et 0,96 %, soit au total 12,52 et 12,50 %. Nous sommes donc ici en présence d'une cause d'erreur possible que nous retrouverons dans le procédé de PEYER [47], et qui nous conduit à écarter la dissolution du suc par l'alcool acide.

14. — Peyer [47] (1925) :

« 2,5 gr. de suc en poudre grossière, sont maintenus à une douce ébullition sur une double toile métallique, pendant trois heures, avec 50 cm³ d'alcool à 95° + 5 cm³ d'acide sulfurique (5/100) dans un Erlenmeyer de 100 cm³ muni d'un réfrigérant à reflux d'au moins 150 cm. de long. Ensuite filtrer, en évitant autant que possible d'entraîner le résidu insoluble sur le filtre. Le résidu est traité encore une fois deux à trois heures de la même façon avec 50 cm³ d'alcool et 5 cm³ d'acide sulfurique (5/100), puis entraîné sur le filtre en le lavant à l'alcool. Le filtrat est complété avec de l'eau distillée à environ 200 cm³ et rendu ammoniacal. Il est alors évaporé à environ 50 cm³ dans une capsule de porcelaine d'environ 9 cm. de diamètre. Ajouter encore une fois 50 cm³ d'eau et q. s. d'ammoniaque pour rendre le liquide alcalin, et évaporer à 50 cm³. Ce résidu est filtré dans un Becher de 100 cm³ en lavant soigneusement la capsule, au besoin en ajoutant une goutte d'ammoniaque. Au filtrat ajouter 5 cm³ d'acide sulfurique dilué (1 + 5), agiter prudemment, laisser reposer une nuit et le lendemain rassembler sur un filtre taré l'acide glycyrrhizique déposé sous forme d'un gâteau d'aspect caractéristique ; laver avec 10 cm³ d'eau + V gouttes d'acide sulfurique et sécher à 75° au plus jusqu'à poids constant. La quantité trouvée multipliée par 50 donne le pourcentage en glycyrrhizine brute. »

Ce procédé est théoriquement bon. Cependant il donne des résultats trop élevés. Il est long et demande beaucoup d'alcool. La dessiccation de la glycyrrhizine à 75° est bonne

car le produit est moins altéré qu'à 100°, mais elle est assez longue.

Résultats numériques : 15 ; 16,22 et 16,66 %.

Avec l'emploi d'acétone au lieu d'alcool, les critiques restent les mêmes, mais les résultats semblent meilleurs : 10,94 et 11,50 %.

B. — MÉTHODE VOLUMÉTRIQUE

TSCHIRCH et CEDERBERG [73] ont fixé le poids moléculaire de l'acide glycyrrhizique pur par dosage volumétrique en présence de phénolphthaléine : une molécule de glycyrrhizine possède trois fonctions acides et consomme trois molécules de soude. CEDERBERG [13], en 1927, propose de baser un dosage sur ce principe, espérant ainsi éliminer l'influence des impuretés qui accompagnent la glycyrrhizine et qui sont pesées avec elle dans les procédés pondéraux. Il opère sur le suc desséché à 100-110° d'après la technique suivante :

« 2 gr. de suc sont laissés en contact une heure en agitant souvent avec 50 gr. d'alcool concentré et 3 gr. d'acide sulfurique 2-N. Filtrer ensuite sur un filtre de 11 cm., laver avec 30 cm³ environ d'alcool et ajouter 5 cm³ d'ammoniaque 5-N. et 10 cm³ d'eau. Evaporer ensuite à environ 15 gr., transvaser dans un Becher de 100 cm³ taré et compléter avec de l'eau à 25 gr. Ajouter alors en agitant 25 cm³ d'acide sulfurique 4-N., chauffer un moment au bain-marie et laisser reposer une heure. Décanter ensuite le liquide aussi complètement que possible sur un filtre de 9 cm. et laver le précipité dans le Becher, puis le filtre avec 25 cm³ d'acide sulfurique 2-N., en laissant la plus grande partie du précipité dans le Becher. Après filtration, faire couler 25 cm³ d'alcool absolu dans le Becher et agiter jusqu'à dissolution du précipité. Filtrer ensuite sur le même filtre dans un vase gradué et laver à l'alcool absolu jusqu'à 50 cm³. Opérer avec cette solution acide de la façon suivante :

1° 5 cm³ sont dilués avec 50 cm³ d'eau, ajouter une goutte

de solution à 1/100 dans l'alcool de phénolphtaléine et titrer avec de la potasse N/10 jusqu'à ce que la couleur jaune du glycyrrhizate neutre formée pendant le dosage vire au vert.

L'alcali employé représente la totalité de l'acidité de 1/10 de solution extractive.

2° 15 cm³ sont dilués dans 50 cm³ d'eau ; faire bouillir et ajouter au mélange 5 cm³ d'une solution de chlorure de baryum à 10 %. Amener le précipité sur un filtre sans cendres de 7 cm., laver à l'eau chaude, essorer et calciner. A la fin de la calcination, ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. La quantité de sulfate de baryum obtenue est calculée en acide sulfurique N/10 pour 1/10 de la solution en multipliant avec 85,65/3. Le nombre de centimètres cubes obtenu est retranché de celui trouvé par titration.

Le reste multiplié par 0,029888 donne la quantité d'acide glycyrrhizique qui est contenue dans 0,2 gr. de poudre. Si la solution est fortement colorée, n'employer pour titrer que 1 ou 2 cm³ ou diluer avec davantage d'eau ».

Résultats numériques : 7,62 ; 7,77 et 8,08 %.

Telle qu'elle est décrite, cette méthode a l'avantage d'être rapide : commencée le matin, elle peut être terminée le soir. Mais elle mérite de sérieuses critiques :

1° Une partie de l'acide glycyrrhizique échappe au dosage : l'extraction par l'alcool sulfurique dans les conditions indiquées n'est pas totale, et il semble nécessaire d'opérer à chaud avec une assez grande quantité de solvant. Il y a d'autre part des pertes importantes dans la précipitation et le lavage de la glycyrrhizine. Le temps de précipitation est insuffisant, les proportions de liquide sont trop élevées ;

2° Aux impuretés que l'on ne peut éliminer, on attribue généralement le caractère acide. Elles sont précipitées par les acides ou les sels de métaux lourds et dissoutes dans les alcalis. Elles réagiront donc vraisemblablement comme la glycyrrhizine vis-à-vis de la soude et leur influence n'est pas diminuée ;

Résultats fournis par diverses méthodes de dosage

(Suc A, non desséché).

Nom de l'Auteur	L'acide est pesé à l'état de	Teneur en glycyrrhizine
FROMME	Glycyrrhizate d'ammonium	16,20 18,36 19,18 20,24
ASTRUC et PICHARD	»	22,3 22,4
PARRY	Acide glycyrrhizique	8,52 8,8
EVANS SONS	Glycyrrhizate d'ammonium	9,32 9,38
HOUSEMAN (1912)	Acide glycyrrhizique	9,52 9,55
LINZ	»	8,95 10,25 10,77
HOUSEMAN (1921)	»	8,95 9,07 9,17 9,57
CODEX HOLLANDAIS	»	10,83 10,93 11
GADAIS I	Glycyrrhizate d'ammonium	12,10 12,27
GADAIS II	»	12,20 12,26
SCHMIDT	Acide glycyrrhizique	11,54 11,95
PEYER (alcool)	»	15 16,22 16,66
PEYER (acétone)	»	10,94 11,50
CEDERBERG	Titration volumétrique	7,62 7,77 8,08

3° Enfin et surtout, cause d'erreur permanente, le poids moléculaire indiqué n'est plus admis aujourd'hui. L'auteur accepte le nombre de 896,51 qui est celui donné par TSCHIRCH et lui-même [73], alors que Voss et ses collaborateurs [76 à 78], les derniers en date, trouvent un poids moléculaire de 824. Cette valeur, qui semble plus vraisemblable, ne peut cependant pas être regardée comme définitive.

Ce dosage, qui a un point de départ plus scientifique que les procédés gravimétriques, ne peut pas être retenu, tant que le poids moléculaire de l'acide glycyrrhizique ne sera pas connu avec certitude.

III. — Les méthodes de dosage avec hydrolyse de la glycyrrhizine.

Le principal inconvénient des procédés de dosage basés sur l'isolement d'un produit que l'on pèse ou que l'on titre acidimétriquement, réside dans l'impossibilité, d'une part, de séparer complètement la glycyrrhizine des impuretés qui l'accompagnent, d'autre part, de l'extraire quantitativement. D'où l'essai de doser les produits d'hydrolyse. Nous avons indiqué déjà que la glycyrrhizine se dédouble en une molécule d'acide glycyrrhétique et deux molécules d'un acide uronique, celui-ci pouvant se dégrader en furfurol ; d'où plusieurs procédés de dosage basés sur la formation de l'acide uronique ou du furfurol.

MÉTHODE BASÉE SUR LE DOSAGE DE L'ACIDE URONIQUE.

Rappelons que, d'après les travaux les plus récents, on ne peut connaître avec certitude, quel acide uronique est libéré dans l'hydrolyse de la glycyrrhizine. BERGMANN [7] a essayé sur les conseils de NEUBERG [45], de faire une hydrazone avec la 2-4 dinitrophénylhydrazine, mais il n'a pu obtenir de produit cristallisé. Ne pouvant isoler facilement une

combinaison bien définie de l'acide uronique, on a cherché à utiliser son action réductrice sur les sels cuivriques. La seule méthode publiée est celle de TSCHIRCH et ERIKSSON [19] (1910). Le principe du dosage est simple : hydrolyser l'acide glycyrrhizique, le faire agir sur un sel cuivrique et recueillir l'oxydule de cuivre formé. LINZ [38] a étudié cette méthode en détail ; il lui fait deux critiques : l'acide uronique libéré se trouve en présence de sucres réducteurs, soit directement (glucose), soit après interversion (saccharose) existant normalement dans le suc. D'autre part, l'hydrolyse de l'acide glycyrrhizique semble pratiquement impossible dans les conditions habituelles d'un dosage ; elle se fait généralement à l'autoclave pendant plusieurs heures et même dans ces conditions, elle n'est pas complète.

Cette seconde objection suffit à éliminer tout dosage basé sur le principe de l'hydrolyse de la glycyrrhizine jusqu'au stade acide uronique. TSCHIRCH et ERIKSSON ne semblent pas d'ailleurs avoir cherché à obtenir une hydrolyse quantitative.

Il faut également rejeter la technique employée pour doser l'acide uronique en présence de glucose et de saccharose. Le suc est traité par l'eau et la solution est additionnée d'alcool. Dans le filtrat privé d'alcool par évaporation, on précipite l'acide glycyrrhizique par l'acide sulfurique. On filtre, et dans ce second filtrat on dose le glucose par contact à froid pendant une nuit avec la liqueur cupropotassique et on sépare l'oxydule formé ; puis on dose le saccharose par ébullition avec le même réactif. Le précipité d'acide glycyrrhizique est redissous dans un alcali, on hydrolyse et on dose l'acide uronique par ébullition de quinze heures avec la liqueur cupropotassique. Nous retrouverons le même dosage dans la racine, mais là, on n'isole pas l'acide glycyrrhizique. Sur la même solution, on fait successivement agir la liqueur de Fehling par contact à froid (glucose), ébullition de trois minutes (saccharose) et ébullition de quinze heures (acide glycyrrhizique), en recueillant à chaque fois l'oxydule formé.

Le dosage de l'acide glycyrrhizique par cette méthode

n'est pas acceptable. Au cours de l'isolement de ce corps, il se produit des pertes importantes. L'évolution de l'hydrolyse de l'acide, en milieu alcalin, n'est pas connue et il semble que l'oxydule vienne surtout de l'auto-réduction de la liqueur cupropotassique par ébullition prolongée.

Quant au dosage du glucose et du saccharose, un essai sur une solution de ces sucres montre qu'il n'est pas utilisable. En particulier, l'interversion du saccharose n'est pas complètement réalisée par ébullition de trois minutes en milieu alcalin.

Un dosage basé sur le principe de la réduction des sels cuivriques ne serait avantageux que si les impuretés qui accompagnent l'acide glycyrrhizique, et qui sont acides, donnaient des corps non réducteurs au cours de l'hydrolyse. Mais on ignore tout de cette question. Aussi est-il inutile d'insister sur ce dosage que LINZ a étudié en détail. Tout au plus, peut-on en retenir le principe, bien que la difficulté d'une hydrolyse totale de l'acide glycyrrhizique dans des conditions pratiques semble écarter actuellement la possibilité de trouver une technique convenable.

MÉTHODE BASÉE SUR LE DOSAGE DU FURFUROL

La méthode utilisant la décomposition de l'acide uronique jusqu'au stade furfurol a été étudiée en détail par EDER et SACK [18], qui ont basé sur ce principe un dosage de la glycyrrhizine dans le suc et dans la poudre de réglisse. Ils ont appliqué à ces produits les travaux de TOLLENS et KRÖBER [71] sur le dosage des pentoses et des pentosanes, de LEFÈVRE, TOLLENS et STERN [36, 63 et 68 à 71] sur le dosage de l'acide glycuronique et ceux de KARRER et de ses collaborateurs [33] sur le dosage de l'acide glycuronique libéré du glycyrrhizate de potassium chimiquement pur. Tous ces corps fournissent, en effet, du furfurol par une décomposition, qui peut se faire par distillation avec de l'acide chlorhydrique.

Le dosage débute par la transformation de l'acide glycyrr-

rhizique en furfurol par distillation avec de l'acide chlorhydrique. Or *cette transformation n'est totale ni avec les pentoses ni avec l'acide glycuronique*. Au cours du chauffage avec l'acide chlorhydrique, le furfurol est en partie dissocié et en quantité d'autant plus grande que la distillation est plus lente, c'est-à-dire que le contact avec l'acide chlorhydrique est plus prolongé. Avec l'acide glycuronique, il peut de plus se former de la formaldéhyde et de l'acétaldéhyde, si l'on opère en solution trop concentrée. Les auteurs, admettant que la dissociation se passe uniformément si l'on opère dans des conditions semblables, indiquent une technique, où la température et la vitesse de distillation sont bien déterminées. Ils admettent aussi que l'acide glycyrrhizique existant dans le suc ou dans la racine de réglisse fournit dans les mêmes conditions la même quantité de furfurol que l'acide glycyrrhizique pur.

Mais, il existe dans le suc des produits divers, qui peuvent donner par distillation avec l'acide chlorhydrique du furfurol ou des corps réagissant avec le réactif qui sert à le doser. Il importe d'éliminer ces produits et en particulier les hexoses, les di- et les polysaccharides. L'isolement de l'acide glycyrrhizique par précipitation au moyen de l'acide sulfurique présente l'inconvénient de ne pas être complet, et les auteurs préfèrent former une combinaison avec un métal lourd. L'acétate neutre de plomb paraît convenir, mieux encore que le nitrate d'argent. On opère dans l'alcool à 50%, et la glycyrrhizine est ainsi séparée de la plupart de ses impuretés. Celles qui restent donnent peut-être du furfurol, mais très peu par rapport à celui qui vient de la glycyrrhizine. Celle-ci est précipitée entièrement par les sels de plomb.

Le dosage du furfurol dans le distillat chlorhydrique peut se faire par la méthode de KRÖBER [71], selon laquelle on précipite le furfurol par la phloroglucine, mais le précipité obtenu est hygroscopique et ne reprend pas son poids primitif par dessiccation. La phloroglucine donne également des précipités avec les produits de distillation de corps autres que les pentoses, les pentosanes et l'acide glycuro-

nique, par exemple avec le saccharose, l'amidon, la cellulose.

Aussi EDER et SACK préfèrent-ils employer la méthode de UNGER et JÄGER [75]. On ajoute à la solution de furfural un grand excès d'acide barbiturique en solution chlorhydrique à 12 %. On filtre après douze à seize heures et on sèche à 105°. Le produit de condensation est jaune, de for-

mule : $C_4H_3OCH = C \begin{array}{l} \diagup CO - NH \\ \diagdown CO - NH \end{array} > CO$, et de poids moléculaire égal à 206,13.

Lorsque ce dérivé est obtenu à partir de l'acide glycyrrhizique pur, il représente 13,75 % de la quantité d'acide mise en jeu. Sa couleur est une preuve de sa pureté ; normalement jaune clair, elle devient jaune sale à verdâtre si l'on a distillé avec du saccharose, de l'amidon ou de la cellulose.

Le dosage se fait sur un soluté du suc obtenu suivant la méthode de LINZ [38] ; on précipite la glycyrrhizine par l'acétate neutre de plomb et on distille le glycyrrhizate de plomb avec de l'acide chlorhydrique dans des conditions bien déterminées. Dans le filtrat, on précipite le furfural par l'acide barbiturique et on termine le dosage par pesée. Tous les détails sont précisés avec soin dans la technique publiée.

Cette méthode a donné aux auteurs des résultats de 1 à 2 % inférieurs à ceux obtenus par la méthode de LINZ, ce qu'ils attribuent aux impuretés pesées avec l'acide glycyrrhizique dans ce dernier cas.

Nous ne pensons pas que le dosage d'EDER et de SACK soit supérieur aux procédés pondéraux, dont il veut supprimer les incertitudes. Aussi long et plus délicat, il n'a pas de base scientifique mieux établie puisque l'hydrolyse de la glycyrrhizine n'est pas complète. Il faut, de plus, admettre que cette hydrolyse se fait dans les mêmes conditions quelles que soient les impuretés en présence. Il faut également admettre que la quantité de furfural fournie par ces impuretés au cours de la distillation n'amène pas de cause d'erreur, ce qui peut être contestable, car beaucoup de substances donnent du furfural dans ces conditions.

Le dosage du furfurool semble acceptable. Cependant si l'on pouvait obtenir ce furfurool dans des conditions moins critiquables, il serait sans doute bon d'essayer d'appliquer la méthode de dosage d'ERNST SIMON [62] par combinaison avec la 2-4 dinitrophénylhydrazine. La combinaison pourrait être filtrée après une heure et séchée rapidement à 110-115°, ce qui ferait gagner un temps appréciable.

Conclusions sur le dosage dans le suc.

Le nombre des dosages publiés et la variété des principes sur lesquels ils reposent suffisent à montrer que nous ne possédons pas encore de méthode permettant de déterminer avec précision la teneur en glycyrrhizine du suc de réglisse. Il en est de même pour les autres préparations de réglisse qui forment des milieux un peu moins complexes et où il suffit d'adapter le dosage utilisé pour le suc. Le travail de LINZ [38] nous a permis d'éliminer un certain nombre de procédés. Parmi ceux que nous avons plus spécialement étudiés, nous rejetons les méthodes de FROMME [22] et du CODEX 1937. Celles de SCHMIDT [60], de PEYER [47] et du CODEX HOLLANDAIS 1926, seraient acceptables à la rigueur. PARRY [46], EVANS SONS [20], HOUSEMAN [31] (1912), LINZ [38], GADAIS [23] ont publié des procédés utilisables mais celui de HOUSEMAN [32] (1921) est préférable parce que plus pratique et plus juste. Il faut citer à part le dosage de LEHMANN [37], que, pour des raisons exposées plus haut, nous n'avons pu expérimenter.

Enfin, il faut éliminer la méthode volumétrique et les dosages utilisant l'hydrolyse de la glycyrrhizine.

Il nous a semblé intéressant de rassembler les principales critiques concernant le dosage avant de reprendre la méthode de HOUSEMAN (1921) [32].

L'extraction du suc ne doit pas se faire par l'eau ammoniacale. On peut employer l'alcool acide, mais le plus pratique semble être l'alcool dilué. La présence d'alcool permet de gagner du temps si l'on emploie la filtration, et

c'est un élément important de purification. Le titre de 75° adopté par HOUSEMAN (1921) nous semble convenable, car toute la glycyrrhizine est dissoute par ce liquide. Il faut laisser reposer six heures avant de filtrer ou de centrifuger. Au besoin on pourrait se contenter de trois heures, mais c'est le temps minimum pour obtenir une précipitation suffisante des substances gommeuses et mucilagineuses.

Le précipité est séparé par filtration ou centrifugation ; ce dernier procédé est le plus pratique. Nous avons cherché s'il était possible de prélever une partie aliquote de solution correspondant à un poids déterminé de suc ; les résultats obtenus ne sont pas constants et il est préférable de recueillir tout ce qui est soluble dans l'alcool et de laver soigneusement le précipité. Par centrifugation, le lavage est complet avec quatre fois 20 cm³ d'alcool à 75°.

La solution alcoolique est évaporée au bain-marie. Il faut pour chasser tout l'alcool, évaporer à consistance pâteuse. L'alcool restant éventuellement générerait la précipitation de l'acide glycyrrhizique. Cette précipitation se fait le mieux par l'acide sulfurique, en laissant reposer la solution au moins douze heures.

Les conditions de lavage du précipité doivent être très précises. Ce lavage est suffisant, si l'on emploie la centrifugation, avec une dizaine de centimètres cubes d'eau saturée d'éther, employés en deux fois. Si l'on lave sur filtre, il semble préférable d'utiliser d'abord de l'acide sulfurique à 2 % (10 cm³) puis de l'eau saturée d'éther (10 cm³).

La purification de la glycyrrhizine par l'alcool ou l'acétone est importante. Si l'on opère sur un filtre, il est indispensable de laisser sécher le précipité avant de le traiter par un de ces solvants, mais cette précaution devient inutile si l'on centrifuge. L'emploi de l'alcool ou de l'acétone semble indifférent, chacun ayant ses avantages et ses inconvénients, mais il faut savoir qu'avec l'alcool les résultats seront sensiblement plus élevés.

La solubilité de l'acide glycyrrhizique est un facteur important. L'emploi d'une correction de solubilité suivant un chiffre déterminé n'est pas sans critique. Il semble pré-

férable de récupérer les pertes et de les doser suivant une technique du type LINZ-HOUSEMAN (1921). L'inconvénient évident est d'augmenter la durée du dosage, mais la quantité des pertes récupérées est assez importante (plus de 1 % du suc) pour justifier cette opération. On peut d'ailleurs gagner sensiblement du temps en laissant le premier précipité une heure seulement au contact de la solution-mère, ce qui est suffisant pour obtenir la précipitation de la plus grande partie de la glycyrrhizine. Enfin, on fera les précipitations, lavages et centrifugations à la température de la glace fondante.

Pour terminer ce rappel, nous insistons sur le fait que les données doivent être précises dans leurs moindres détails.

Toutes ces remarques concordent avec le dosage de HOUSEMAN (1921). Celui-ci est un perfectionnement de la méthode de LINZ, et il semble que l'on puisse simplifier encore les données sans nuire au résultat. Avec quelques modifications de détail, nous proposons principalement : d'une part de supprimer le contact d'une nuit du suc avec l'eau (la dissolution se faisant très bien en délayant avec l'eau) : d'autre part de faire la première précipitation en une heure seulement. On gagne ainsi quarante-huit heures. Nous proposons donc la technique suivante :

« Triturer 2,5 gr. de suc pulvérisé avec 20 cm³ d'eau distillée tiède (40-50°) employée par petites quantités, en décantant chaque fois de façon à mettre tout le suc en suspension dans la quantité d'eau prescrite : ajouter 67 cm³ d'alcool à 95°, ce qui donne avec l'eau et l'humidité du suc un mélange alcoolique au titre d'environ 75°. Laisser reposer au moins six heures. Centrifuger, décanté, et laver quatre fois le résidu insoluble en l'agitant à chaque reprise avec 20 cm³ d'alcool à 75° et en centrifugeant. Ajouter ces liqueurs de lavage au liquide d'extraction et évaporer au bain-marie à consistance pâteuse pour chasser tout l'alcool. Dissoudre le résidu dans 10 cm³ d'eau, filtrer la solution, si besoin est, dans un tube à centrifuger et compléter à 30 cm³ en lavant le filtre à l'eau. Ajouter 0,5 cm³ d'acide sulfurique con-

centré officinal en agitant et laisser reposer au moins une heure à la glacière, ou à défaut dans la glace. Centrifuger et laver le précipité par agitation et centrifugation avec deux fois 5 cm³ d'eau glacée saturée d'éther, en maintenant le tube à basse température. Traiter par 25 cm³ d'alcool à 95° bouillant. Centrifuger et traiter avec deux fois 10 cm³ d'alcool à 95° bouillant. Mettre à part ces solutions alcooliques en vase bouché.

Ajouter au liquide aqueux décanté de l'acide glycyrrhizique les deux eaux de lavage, saturer d'ammoniaque et concentrer à 4 ou 5 cm³. Verser dans un tube à centrifuger en s'aidant de quelques gouttes d'eau légèrement ammoniacale et compléter à 10 cm³ avec de l'eau. Ajouter 0,25 cm³ d'acide sulfurique officinal, agiter et laisser reposer au moins douze heures à la glacière, ou, à défaut, la dernière heure dans la glace. Centrifuger, décanté, laver par centrifugation avec 5 cm³, puis 3 cm³ d'eau glacée saturée d'éther, toutes ces opérations se faisant à basse température. Agiter le précipité avec 25 cm³ d'alcool à 95° bouillant et laver deux fois le résidu avec chaque fois 10 cm³ d'alcool à 95° bouillant. Réunir ces liqueurs alcooliques à celles que l'on a mises de côté. Filtrer et laver le filtre à l'alcool. Evaporer dans un cristalliseur taré et sécher à l'étuve à 100° à poids constant. Le résidu représente la proportion d'acide glycyrrhizique dans 2,5 gr. de suc non desséché.

Déterminer sur une autre prise d'essai la teneur en eau du suc par dessiccation à 100° et ramener par calcul le taux de glycyrrhizine à 100 gr. de suc desséché ».

Le produit obtenu est brun clair et possède après dissolution dans l'eau ammoniacale une saveur sucrée accompagnée d'un goût plus ou moins amer. D'après sa couleur, c'est l'un des produits les plus purs que nous ayons obtenus, parmi les dosages pondéraux essayés.

Si notre méthode devait servir de dosage officiel, il semble que l'on pourrait exiger *un titre minimum de 7 % de glycyrrhizine* dans le suc de réglisse officinal.

RÉSULTATS NUMÉRIQUES OBTENUS AVEC NOTRE PROCÉDÉ.

	Poids de l'acide glycyrrhi- zique pesé (en gr.)	Teneur du suc non desséché %	Humidité du suc non desséché %	Teneur du suc desséché %	Variations extrêmes (ramenées à la teneur en glycyrrhizine) %
Suc A	0,260	10,42	9,93	11,56	5,96
	0,266	10,63		11,80	
	0,269	10,77		11,95	
	0,276	11,04		12,25	
Suc B	0,163	6,50	11,02	7,30	1,37
	0,164	6,54		7,35	
	0,165	6,59		7,40	
Suc C	0,173	6,90	10,89	7,74	5,03
	0,181	7,22		8,10	
	0,182	7,26		8,15	
Suc D	0,140	5,60	15,48	6,62	1,81
	0,143	5,72		6,74	
	0,143	5,72		6,74	

CHAPITRE IV

Dosage de la glycyrrhizine dans l'extrait de réglisse.

Le CODEX 1937 définit ainsi l'extrait de réglisse : « extrait brun, de saveur sucrée, donnant avec l'eau une solution neutre et trouble devenant limpide par addition d'ammoniaque. » Jusqu'alors, cet extrait était obtenu par double macération aqueuse, mais la dernière édition de la pharmacopée fait faire cette double macération dans l'eau ammoniacale ; on évapore en consistance d'extrait mou au bain-marie à une température inférieure à 50° et sous pression réduite. L'emploi de l'ammoniaque permet de dissoudre plus de substances et, d'après PICHARD [51] d'obtenir un titre plus grand en glycyrrhizine.

L'extrait se présente comme un milieu moins complexe que le suc et sa teneur en acide glycyrrhizique est plus élevée. Peu de dosages ont été proposés sans doute parce que la plupart des auteurs considèrent que la même méthode est applicable indifféremment à l'extrait ou au suc.

MELLOR [39] (1898) propose la méthode suivante :

« On dissout 5 gr. d'extrait à 100° dans 50 cm³ d'eau distillée. Quand la dissolution est complète, on ajoute 100 cm³ d'alcool à 95° et on agite vigoureusement. On laisse reposer pendant une nuit, on filtre, et on lave avec un mélange de deux parties d'alcool à 95° et une partie d'eau, jusqu'à ce que le filtrat passe incolore. Le filtrat alcoolique est concentré à 30 cm³ et passé dans un vase conique taré, à l'aide de 20 cm³ d'eau. On ajoute 12 gouttes d'acide sulfurique diluées

au préalable avec 5 cm³ d'eau ; on agite, la glycyrrhizine se précipite. On laisse reposer une nuit dans un endroit frais. On verse le liquide sur un filtre et on lave la glycyrrhizine avec de l'eau glacée à trois reprises successives par décantation. On ajoute une goutte d'eau ammoniacale concentrée pour neutraliser l'acide restant. Puis on dessèche jusqu'à poids constant. »

En complétant les données, qui sont imprécises, les résultats fournis par ce dosage seraient acceptables, surtout si l'on purifiait l'acide glycyrrhizique en le reprenant finalement par l'alcool.

La PHARMACOPÉE HOLLANDAISE de 1926 fait suivre la même méthode que pour le suc, en opérant sur 1,50 gr. seulement d'extrait. Elle exige 20 % de glycyrrhizine. Les critiques

RÉSULTATS NUMÉRIQUES OBTENUS AVEC NOTRE PROCÉDÉ.

	Poids de l'acide glycyrrhizique pesé (en gr.)	Teneur du produit non desséché %	Humidité du produit non desséché %	Teneur du produit desséché %	Variations extrêmes (Ramenées à la teneur en glycyrrhizine) %
Extrait a	0,438	29,20	13,34	33,69	1,23
	0,445	29,66		34,22	
	0,447	29,76		34,34	
	0,448	29,83		34,41	
Extrait b	0,279	18,63	15,23	21,97	2,54
	0,28	18,66		22,02	
	0,287	19,10		22,53	
Extrait c	0,30	20	15,24	23,60	1,48
	0,302	20,1		23,71	
	0,305	20,3		23,95	
Extrait d (1) (Codex 1937)	0,281	18,70	24,57	24,79	4,76
	0,29	19,33		25,62	
	0,295	19,63	23,14	25,54	
	0,298	19,96		25,97	

(1) Dans l'extrait « d », les deux séries de dosages ont été faites à quelques semaines d'intervalles ; l'humidité a légèrement varié pendant ce temps.

sont les mêmes que pour le dosage du suc, mais il convient de retenir que la prise d'essai est moins forte.

Il semble que, dans le dosage, il importe d'opérer dans des conditions bien définies, toujours les mêmes, et de se trouver en présence de mêmes quantités de glycyrrhizine. Le produit pesé doit être compris entre 0,15 gr. et 0,50 gr. Nous sommes amenés à employer pour l'extrait le même dosage que pour le suc en opérant sur une prise d'essai de 1,50 gr. seulement. La teneur en eau est déterminée sur une autre prise d'essai et le pourcentage en acide glycyrrhizique est ramené au produit desséché.

CHAPITRE V

Dosage de la glycyrrhizine dans les glycyrrhizines commerciales.

Les glycyrrhizines commerciales sont des mélanges de l'acide glycyrrhizique, de son sel ammoniacal et de substances diverses, dont une partie du principe amer de la racine. Obtenues en précipitant par un acide minéral une solution extractive de réglisse, en redissolvant le précipité dans l'ammoniaque après lavage et en évaporant sur des assiettes, elles se présentent sous forme d'écailles noires, solubles dans l'eau, de saveur sucrée et un peu amère. Elles sont utilisées en nature, en boissons rafraîchissantes ; additionnées d'une substance qui favorise leur dissolution, telle que le bicarbonate de sodium, elles constituent le « coco ». L'industrie de la bière les emploie ; leur faculté de mousser est estimée pour cet usage. On prépare aussi des « glycyrrhizines blondes » par des procédés divers, tel celui que les établissements SAREB [59] (1) ont fait breveter. MORPUGO [41] a indiqué une méthode de recherche dans le vin, ce qui prouve leur emploi possible comme agent de falsification. Signalons enfin que de nombreux auteurs ont préconisé l'usage de la glycyrrhizine pour masquer la saveur de certains médicaments, tels que la quinine.

(1) Le gâteau d'acide glycyrrhizique, obtenu par précipitation d'une solution de racine de réglisse, est traité par un alcool ou un mélange d'alcools peu miscibles à l'eau et peu volatils. L'huile de pin convient très bien. La solution d'acide glycyrrhizique dans l'alcool est purifiée par contact avec une substance d'absorption et on termine par un blanchiment réducteur.

D'après COMINBŒUF [14], un bon glycyrrhizate d'ammoniaque présente la composition suivante :

Glycyrrhizate d'ammoniaque réel.....	70-75 %
Humidité	10 % environ
Matières gommeuses	10-15 %
Cendres.....	1-1,5 %
Insoluble organique (insoluble total- cendres)	2 %

Le même auteur indique le procédé suivant :

« 2 gr. de produit sont dissous dans 50 cm³ d'eau chaude ; après dissolution, on filtre, et on lave le filtre avec 50 cm³ d'eau chaude. Le filtratum est additionné de 5 cm³ d'acide sulfurique normal ; on laisse l'acide glycyrrhizique se précipiter pendant douze heures environ ; au bout de ce temps, on décante le liquide limpide sur un filtre ; l'acide glycyrrhizique dont une partie adhère au fond du vase est lavé à plusieurs reprises, autant que possible par décantation et en employant peu d'eau à chaque fois ; le lavage est continué jusqu'à ce que le filtratum ne donne plus de réaction acide ; on dissout dans l'ammoniaque l'acide glycyrrhizique qui a pu être recueilli sur le filtre, ainsi que celui qui est resté dans le vase ayant servi à la précipitation ; on obtient une solution « A », qui contient la majeure partie de l'acide glycyrrhizique.

Le filtratum contenant les eaux mères dans lesquelles s'est produite la précipitation de l'acide glycyrrhizique et les eaux ayant servi au lavage de celui-ci est évaporé presque à siccité ; l'acide glycyrrhizique se dépose sous forme d'une masse visqueuse et noire ; au moyen d'une spatule, on malaxe celle-ci à trois reprises dans 10, 10 et 5 cm³ d'eau ; on filtre sur un petit filtre ces eaux de lavage ; l'acide glycyrrhizique ainsi obtenu est redissous dans l'ammoniaque ; on obtient ainsi une solution « a » qu'on réunit à la solution « A » ; on évapore le mélange de ces deux solutions jusqu'à siccité et jusqu'à ce que le poids reste constant à 100° ; ce poids représente la proportion de glycyrrhizate d'ammoniaque *réel* contenu dans l'échantillon à analyser ».

De ce dosage, il ne faut retenir que le principe de la récupération des pertes. Nous reprochons surtout d'évaporer les liqueurs acides de précipitation et de lavage sans les neutraliser, ce qui cause une altération profonde de l'acide glycyrrhizique en présence et le rend insoluble dans l'ammoniaque.

BONIS [10] propose la méthode de DURIER (Cf. p. 38). Il fait remarquer que le dosage de l'azote ammoniacal du produit ne renseigne pas sur la quantité d'acide glycyrrhizique.

Le dosage proposé par le FORMULAIRE DES HÔPITAUX MILITAIRES [20], édition de 1930, est sans intérêt. C'est la reproduction du dosage dans le suc du CODEX 1908, avec toutes ses causes d'erreur.

Signalons enfin que beaucoup d'auteurs laissent entendre qu'il suffit d'appliquer le dosage utilisé pour le suc. CAPIN [11] et PICHARD [51] le font.

Nous pensons que la méthode employée pour le suc convient au dosage des glycyrrhizines commerciales en opérant sur 0, 50 gr. de produit et en modifiant légèrement la technique d'extraction en raison du poids de la prise d'essai :

RÉSULTATS NUMÉRIQUES OBTENUS AVEC NOTRE PROCÉDÉ.

	Poids de l'acide glycyrrhizique pesé (en gr.)	Teneur du produit non desséché %	Humidité du produit non desséché %	Teneur du produit desséché %	Variations extrêmes (ramenées à la teneur en glycyrrhizine) %
Glycyrrhizine I	0,341 0,342 0,343	68,10 68,40 68,62	10,26	75,88 76,22 76,46	0,76
Glycyrrhizine II	0,304 0,306 0,308	60,72 61,18 61,60	9,96	67,43 67,94 68,41	1,45
Glycyrrhizine III	0,310 0,313 0,319	62 62,50 63,60	10,72	69,44 70 71,23	2,58

« Dissoudre 0.50 gr. de glycyrrhizine commerciale dans 10 cm³ d'eau. Ajouter 34 cm³ d'acool à 95° et laisser reposer au moins 6 heures. Centrifuger et laver le précipité par centrifugation avec trois fois 20 cm³ d'alcool à 75°. Réunir les solutions alcooliques et terminer le dosage comme il est dit pour le suc de réglisse. Déterminer, par dessiccation à 100°, la teneur en eau sur une autre prise d'essai, et ramener par calcul la quantité d'acide glycyrrhizique à 100 gr. de produit desséché ».

CHAPITRE VI

Dosage de la glycyrrhizine dans la racine et dans la poudre de réglisse.

La poudre de réglisse contient, à côté d'acide glycyrrhizique libre ou combiné, des substances très diverses, dont EDER et SACK [18] donnent la liste suivante :

- | | |
|--------------------------|--|
| 1. Acide glycyrrhizique. | 9. Beaucoup d'amidon. |
| 2. Asparagine (2 à 4 %). | 10. Gommés. |
| 3. Graisses (0,8 %). | 11. Huile essentielle (0,3 à 0,35 %). |
| 4. Résines. | 12. Un peu de salicylate de méthyle. |
| 5. Glucose. | 13. Substance amère (glycyrrhizin-bitter). |
| 6. Saccharose. | 14. Mannite. |
| 7. Matières colorantes. | 15. Acide oxalique. |
| 8. Peu de tannin. | 16. Substances protéiques et minérales. |

Comme dans le suc et pour les mêmes raisons, le dosage de l'acide glycyrrhizique ne peut donner des résultats constants qu'en suivant une technique bien déterminée. Celle-ci comprend également les deux parties : extraction et dosage proprement dit. Ce dernier rappelle le dosage dans le suc, mais l'extraction de la glycyrrhizine se pose dans des conditions différentes. Nous nous trouvons en présence de substances que l'on ne retrouve pas dans le suc, les résines en particulier.

1° On a proposé d'épuiser la poudre avec l'eau par lixiviation et de précipiter par l'acide sulfurique, l'eau ne dissolvant pas les résines. Mais ce procédé est peu pratique :

la poudre gonfle au contact de l'eau, ce qui rend la lixiviation difficile, et le produit obtenu est impur. Comme pour le suc, il est préférable d'ajouter de l'alcool à l'eau.

2° On a mis en doute l'utilité de l'extraction préalable des gommés et des résines. EDER et SACK [18] traitent directement la poudre par l'alcool à 50° en présence d'acide chlorhydrique et distillent le furfurol. Il se peut que les impuretés solubles dans cet alcool ne fournissent pas de furfurol qui serait pesé par la suite avec celui libéré par la glycyrrhizine, ce qui est douteux ; mais il est certain que les résultats obtenus en opérant suivant d'autres méthodes, telle celle de HOUSEMAN (1921) [32], sont différents suivant que l'on a ou non éliminé les résines d'après les indications de l'auteur. Nous avons fait plusieurs dosages dans ces conditions et nous avons pesé respectivement, en moyenne : 0,328 gr. et 0,383 gr. d'un produit considéré comme de l'acide glycyrrhizique, soit une différence de 0,055 gr. (plus de 14 %).

3° HOUSEMAN (1912) [31] faisait une élimination des résines par l'alcool à 95° mais il y a perte de petites quantités de glycyrrhizine par solubilisation dans l'alcool. D'autre part, le précipité d'acide glycyrrhizique n'est plus sous forme d'un produit adhérent en une masse, mais se présente en poudre facilement entraînable par l'eau au cours de l'élimination de l'acide sulfurique par lavage.

4° LINZ [38] préfère employer l'alcool absolu en présence d'ammoniaque qui sature l'acide libre. Les glycyrrhizates alcalins sont sensiblement solubles dans l'alcool absolu, comme CAPIN [11] l'a montré.

5° HOUSEMAN (1921) [32] fait une extraction préalable à l'éther, qui dissout les résines mais laisse le principe amer que l'on retrouvera dans le produit pesé. EDER et SACK [18] ont reproché à cette méthode de dissoudre des traces de glycyrrhizine. Il semble que la caractérisation de la glycyrrhizine par précipitation à l'acétate neutre de plomb, suivant la méthode qu'ils emploient, n'est pas spécifique. On ne peut pas davantage utiliser le réactif sulfo-vanillique qui donne avec le produit d'extraction de la racine par l'éther

une coloration rouge-violet plus intense et plus rapide à se former que celle fournie par la glycyrrhizine. Il faut donc se contenter des caractères organoleptiques.

Nous avons épuisé à l'éther une certaine quantité de poudre de réglisse. Après avoir chassé l'éther, le résidu a été repris par l'eau ammoniacale, la solution précipitée par l'acide sulfurique et le précipité remis en solution alcaline. Nous avons constaté que l'éther ne dissout pratiquement pas de glycyrrhizine.

Nous retrouvons, pour la racine de réglisse, les mêmes principes de dosage que pour le suc. Aussi nous étudierons successivement :

les procédés pondéraux,
le procédé volumétrique,
le procédé par dosage de l'acide uronique,
le procédé par dosage du furfurol.

PROCÉDÉS PONDÉRAUX

Peu de méthodes ont été publiées. Il faut signaler d'abord le procédé de HOUSEMAN (1912) [31]. L'auteur traite la poudre, desséchée à l'exsiccateur, quatre fois par l'alcool à 95°, chaque extraction durant vingt-quatre heures. Le résidu insoluble est extrait par de l'alcool à 50°, en quantité non indiquée et c'est sur cet extrait alcoolique que l'on fait le dosage proprement dit.

LINZ [38] a pris le travail de HOUSEMAN comme base. Il a caractérisé des traces de glycyrrhizine dans le résidu de résine et de substances amères obtenu par évaporation du liquide d'épuisement de la poudre par l'alcool à 95°. Aussi conseille-t-il de faire la première extraction par l'alcool absolu en présence d'ammoniaque. Nous venons de voir que cette technique n'est pas correcte et qu'elle est très longue.

Seule, la méthode de HOUSEMAN (1921) [32] mérite d'être retenue :

« Extraire 3 gr. de racine pulvérisée avec 50 cm³ d'éther

dans un appareil à extraction spécial, ce qui permet d'obtenir 1,5 à 4,5 % de résine. Sécher le résidu et le transvaser dans un tube à centrifuger de 100 cm³. Laver le récipient avec de l'alcool à 75° et verser la liqueur de lavage dans le tube. Compléter à 75 cm³ avec de l'alcool à 75°. Agiter fréquemment et laisser reposer toute une nuit.

L'extraction à l'éther peut se faire dans un tube à centrifuger en agitant trois fois quinze minutes avec 75 cm³ d'éther. Centrifuger et décanner le liquide limpide après chaque traitement. Chasser l'éther.

Traiter ensuite la poudre comme dans le cas du suc : laver deux fois à l'alcool à 75°, agiter quinze minutes chaque fois, centrifuger et décanner. Evaporer à siccité, dissoudre dans 10 cm³ d'eau, filtrer et compléter à 20 cm³ (au lieu de 30 cm³ prescrits pour 2 gr. de suc), précipiter avec 3 cm³ d'acide sulfurique à 10 %, etc... comme précédemment décrit » (Cf. p. 50).

Résultats numériques : 11,61 et 12,02 %.

La purification préalable à l'éther est bonne et utile. Nous opérons par action de l'éther sur la poudre dans un tube à centrifuger, jusqu'à ce que l'éther soit incolore et ne laisse plus de résidu à l'évaporation. Il est bon de laisser l'éther en contact avec la poudre au moins un quart d'heure avant de centrifuger. L'extraction par l'alcool à 75° dissout toute la glycyrrhizine, mais le premier contact doit être d'au moins une nuit. Il suffit ensuite de laver avec trois fois 20 cm³ d'alcool à 75° en laissant un quart d'heure en contact chaque fois. Ces lavages se font facilement, la poudre se mettant très bien en suspension dans l'alcool ou l'éther.

Nous avons constaté que le produit de précipitation par l'acide sulfurique, lavé à l'eau éthérée est presque entièrement soluble dans l'alcool fort.

« Epuiser 2,50 gr. de poudre dans un tube à centrifuger avec de l'éther (environ 20 cm³), centrifuger et répéter l'opération jusqu'à ce que l'éther soit incolore. Sécher à l'air libre et laisser une nuit en contact avec 75 cm³ d'alcool à 75°. Centrifuger, décanner et laver avec trois fois

20 cm³ d'alcool à 75°. Réunir les solutions alcooliques et les évaporer à consistance sirupeuse. Reprendre le résidu par quelques centimètres cubes d'eau, filtrer et compléter à 10 cm³ dans un tube à centrifuger. Précipiter par 0,40 cm³ d'acide sulfurique officinal. Laisser reposer douze heures à la glacière, ou à défaut, la dernière heure dans la glace. Centrifuger et laver soigneusement le précipité avec 5 cm³, puis 3 cm³ d'eau glacée saturée d'éther. Maintenir le tube froid pendant toutes ces opérations. Dissoudre l'acide glycyrrhizique dans 25 cm³ d'alcool à 95° bouillant. Laver avec deux fois 10 cm³ d'alcool à 95°. Evaporer les solutions alcooliques dans un cristallisoir taré. Sécher à l'étuve à 100° à poids constant et peser. »

HOUSEMAN [32], fait sécher la poudre dans des conditions un peu imprécises : une heure ou deux à 50° ou un jour ou deux dans un exsiccateur à vide sur acide sulfurique. Nous préférons comme pour les autres produits étudiés, déterminer l'humidité sur une prise d'essai différente et ramener la teneur en glycyrrhizine à 100 gr. de produit desséché.

RÉSULTATS NUMÉRIQUES OBTENUS AVEC NOTRE PROCÉDÉ.

	Poids de l'acide glycyrrhizique pesé (en gr.)	Teneur du produit non desséché %	Humidité du produit non desséché %	Teneur du produit desséché %	Variations extrêmes (ramenées à la teneur en glycyrrhizine) %
Poudre 1	0,263	10,53	8,98	11,56	4,14
	0,2635	10,54		11,57	
	0,269	10,78		11,84	
	0,274	10,96		12,04	
Poudre 2	0,172	6,86	7,66	7,42	3,63
	0,173	6,88		7,45	
	0,18	7,20		7,69	
Poudre 3	0,27	10,80	8,14	11,75	3,72
	0,273	10,90		11,86	
	0,28	11,22		12,19	
Poudre 4	0,202	8,08	8,96	8,87	3,72
	0,210	8,38		9,20	

Le produit obtenu suivant notre technique est brun clair. Parmi les impuretés qui le souillent il se trouve une partie du principe amer qui n'est pas éliminé par l'éther.

PROCÉDÉ VOLUMÉTRIQUE

Indiquée par CEDERBERG [13] en 1927, cette technique est la même que celle que nous avons étudiée pour le suc. Elle mérite les mêmes critiques et doit être écartée pour les mêmes raisons.

Résultats numériques : 8,22, 8,55 et 8,66 %.

PROCÉDÉ PAR DOSAGE DE L'ACIDE URONIQUE

C'est la méthode de TSCHIRCH et ERIKSSON [19] que nous avons vue pour le suc. La poudre est épuisée par percolation à l'eau alcaline ; la solution est additionnée d'alcool et filtrée. Le filtrat est privé d'alcool par évaporation. L'emploi de l'eau alcaline amène la dissolution d'impuretés, dont on ne connaît d'ailleurs pas l'action sur la liqueur cupropotasique. La longueur de la percolation permet la fermentation du milieu et sans doute la disparition d'une partie de la glycyrrhizine. Le dosage se fait comme celui dans le suc suivant la méthode indiquée par l'auteur : contact de quinze heures à froid avec la liqueur de Fehling pour le glucose, ébullition de trois minutes pour le saccharose et ébullition prolongée pour l'acide glycyrrhizique. Nous avons signalé plus haut que ces dosages ne reposent sur aucune base scientifique. Ici les trois dosages se font successivement sur la même prise d'essai, alors que dans le suc, on déterminait à part le glucose et le saccharose. L'auteur n'explique pas la cause de cette différence. La raison semble en être que la solution extractive contient moins d'impuretés que celle du suc.

PROCÉDÉ PAR DOSAGE DU FURFUROL

EDER et SACK [18] proposent pour la poudre la même méthode que pour le suc. Ils épuisent par lixiviation la poudre avec de l'alcool à 50° en présence d'acide chlorhydrique et ils séparent l'acide glycyrrhizique par précipitation avec l'acétate neutre du plomb. Ils terminent le dosage comme pour le suc (Cf. p. 62).

Pour les raisons que nous avons déjà indiquées, nous écarterons ce procédé.

CONCLUSIONS

Après avoir donné un aperçu des récents travaux sur la constitution de l'acide glycyrrhizique, nous avons au cours de ce travail :

1^o Etudié les conditions générales de dosage de l'acide glycyrrhizique et présenté une critique des méthodes de dosage publiées pour le suc, l'extrait et la poudre de réglisse, ainsi que pour les glycyrrhizines commerciales.

2^o Etudié pour chacun de ces produits une technique de dosage simple, rapide et suffisamment exacte, dont le principe est le suivant :

La glycyrrhizine est extraite par l'alcool à 75° et amenée après évaporation de l'alcool en solution aqueuse. Elle est précipitée par l'acide sulfurique, lavée à l'eau étherée et purifiée par dissolution dans l'alcool. Dans les eaux mères et les eaux de lavage, on récupère et on isole de la même façon la glycyrrhizine entraînée (sauf pour la racine). On réunit les solutés alcooliques, on évapore dans un cristalliseur taré et on sèche à 100° à poids constant. Le résidu représente la glycyrrhizine.

L'état actuel de la question ne nous a pas permis d'obtenir un dosage rigoureusement précis. La méthode proposée conduit cependant à des résultats satisfaisants, à condition de la respecter dans ses moindres détails.

Vu : le Doyen,
A. DAMIENS.

Vu : Le Président de la thèse,
A. GORIS.

Vu et permis d'imprimer :
le Recteur de l'Académie de Paris,
ROUSSY.

BIBLIOGRAPHIE

Pour les travaux sur la constitution de l'acide glycyrrhizique antérieurs à TSCHIRCH et CEDERBERG, se reporter à la thèse de CEDERBERG. D'autre part, on trouvera une bibliographie très complète dans LINZ. *Arch. d. Pharm.*, 1916, **254**, p. 216-9.

1. ABDERHALDEN (E.). — Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, 1910, **2**, p. 130-135. Berlin, Urban und Schwarzenberg, éd.
2. ANSELMINO (O.) und GILG (E.). — Kommentar zum deutschen Arzneibuch. 5. Aufl., 1910, 420-425. Berlin, Springer, éd., 1911, 2 vol. in-8°.
3. — Kommentar zum deutschen Arzneibuch. 6. Aufl., 1926, p. 542-549. Berlin, Springer, éd., 1928, 2 vol. in-8°.
4. ASTRUC (A.) et PICHARD (G.). — Sur le dosage pondéral de la réglisse. *J. Pharm. Chim.*, 1918, **18**, p. 289-290.
5. AUGUET (A.). — Composition et analyse des bonbons à la réglisse et produits similaires. *Ann. Fals. et Fraudes*, 1909, **2**, p. 387-390.
6. BERGMANN (E. und F.). — Zur Kenntnis der Glycyrrhetinsäure. *Helv. Chim. Acta*, 1937, **20**, p. 207-208.
7. BERGMANN (F.). — Ueber das enzymatische Verhalten von Glucuroniden und über Glycyrrhizinsäure. *Bio.chem. Z.*, 1933, **267**, p. 296-308.
8. BERTOLO (P.). — Sopra alcune reazioni della glicirrizina. *Giorn. Chim. Ind.*, 1925, **7**, p. 404-405.
9. — Sulla preparazione della glicirrizina commerciale. *Giorn. Chim. Ind.*, 1923, **5**, p. 497-498.
10. BONIS (A.). — Les glyzines commerciales. *Ann. Fals. et Fraudes*, 1929, **22**, p. 518-522.

11. CAPIN (J.). — Contribution à l'étude chimique et pharmaceutique de la glyzine ou glycyrrhizate d'ammoniaque. Thèse Doct. univ. pharm. Bordeaux, 1911 (60 p.). Imprimerie commerciale et industrielle, éd.
12. CEDERBERG (H.). — Untersuchungen über Glycyrrhizin und andere Bestandteile im Süssholz. Diss. Bern. 1907 (43 p.) Edmund Stein, Potsdam, éd.
13. — Die quantitative Bestimmung der Glycyrrhizinsäure im Süssholzbereitungen. *Apoth. Zeit.*, 1927, **42**, p. 1131.
14. CORMINBŒUF (H.). — Dosage de l'acide glycyrrhizique dans les glycyrrhizates d'ammoniaque commerciaux. *Ann. Chim. Anal.*, 1912, **17**, p. 47-50.
15. DIEHL (L.). — Prüfung von Succus Liquiritiae für pharmaceutische und technische Zwecke. *Pharm. Rund.*, 1883, **1**, p. 31-32.
16. DIETERICH (E. und K.). — Succus Liquiritiae. *Helfenberger Annalen*, 1897, p. 387.
17. DURIER (E.). — Dosage de la glycyrrhizine dans les bons et les sucs de réglisse. *Ann. Fals. et Fraudes*, 1913, **6**, p. 252-255.
18. EDER (R.), und SACK (A.). — Quantitative Bestimmung der Glycyrrhizinsäure in Radix und Succus Liquiritiae. *Pharm. Acta Helv.*, 1929, **4**, p. 23-48.
19. ERIKSSON (E.). — Bestimmung des Glycyrrhizins und der Zuckerarten im Süssholzpulver und Süssholzextrakt. *Arch. d. Pharm.*, 1911, **249**, p. 144-160.
20. EVANS SONS, LESCHER and WEBB. — Liquorice juice. *Analytical notes*, 1910, p. 44-45.
21. FORMULAIRE PHARMACEUTIQUE DU SERVICE DE SANTÉ DE L'ARMÉE. — 1930, p. 229.
22. FROMME (G.). — Zusammenstellung von Vorschriften und Methoden zur Wertbestimmung von Drogen. *Jahres Bericht der Caesar und Loretz A. G.*, 1924, p. 233-306.
23. GADAIS (L. et J.). — Analyse des sucs de réglisse. *Ann. Chim. Anal.*, 1911, **16**, p. 418-420.
24. GALASSI (M.). — Sulla natura chimica della glicirrizina. *Arch. Farm. Sper.*, 1927, **43**, p. 231-240.
25. GAUCHMANN (S.). — Ueber Glycyrrhizin und andere Plan-

- zensüsstoffe. Diss. Bern., 1909, 54 p. Berlin, Denter und Nicolas, éd.
26. GLÜCKSMANN (C.). — Zur Prüfung von Succus Liquiritiæ. *Zeit. Oest. Apoth. Ver.*, 1899, **37**, p. 342-345.
27. GOUIRAND (P.). — Recherche de la glycyrrhizine dans les pâtes et pastilles de réglisse. *Ann. Chim. Anal.*, 1912, **17**, p. 291-300.
28. HAFFNER (B.). — Zur Glycyrrhizinbestimmung im Succus Liquiritiæ. *Zeit. Oest. Apoth. Ver.*, 1899, **37**, p. 542-545, 572-575, 588-591, 612-615, 1899, **38**, p. 241-244, 731-734.
29. HAGER (H.), FISCHER (B.) und HARTWICH (C.). — Kommentar zum Arzneibuch für das Deutsche Reich. 3. Aufl. **2**, p. 625-627. Berlin, Springer. 1895-1896, 2 vol. in-8°.
30. HOFMANN (E.). — Ueber die Hydrolyse der β -Glykoside und der gepaarten Glucuronsäuren durch Fermente aus Leber und Niere. *Biochem. Z.*, 1935, **281**, p. 438-443.
31. HOUSEMAN (A.). — The constituents of licorice root and of licorice extract. *Amer. Journ. Pharm.*, 1912, **84**, p. 531-546. 1916, **88**, p. 97-105.
32. — Studies on licorice root and licorice extract. *Amer. Journ. Pharm.*, 1921, **93**, p. 481-495.
33. KARRER (P.), KARRER (W.) und CHAO (J. C.). — Beitrag zur Kenntnis der Glycyrrhizins. *Helv. Chim. Acta*, 1921, **4**, p. 100-112.
34. KINZEY (O.). — An examination of some commercial powdered extracts of licorice. *Amer. Journ., Pharm.*, 1898, **70**, p. 23-25.
35. KREMEL (A.). — Succus Liquiritiæ. *Pharm. Post.*, 1889, **22**, p. 194.
36. LEFÈVRE (K. U.), und TOLLENS (B.). — Untersuchungen über die Glucuronsäure, ihre quantitative Bestimmung und ihre Farbenreaktionen. *Ber. Dstch. Chem. Ges.* 1907, **40**, p. 4513-4523.
37. LEHMANN (U.). — Versuche zur Bestimmung der Glycyrrhizinsäure im Succus Liquiritiæ. *Apoth. Zeit.*, 1934, **49**, p. 1425-1427.
38. LINZ (A.). — Vergleichende Untersuchungen der zur Bestimmung des Glycyrrhizins in der Süssholzwurzel und im Succus Liquiritiæ vorgeschlagenen Methoden. *Arch. d. Pharm.*, 1916, **254**, p. 65-134 et 204-224.

39. MELLOR (A.). — Method of analysis of licorice mass. *Amer. Journ. Pharm.*, 1898, **70**, p. 136-137.
40. MEUNIER (A.). — Contribution à l'étude des Glucides dans quelques espèces indigènes du genre « Lathyrus » (Papilionacées), thèse Doct. sc. Nancy, 1933, 304 p. Declume, Lons-le-Saunier, éd.
41. MORPUGO (G.). — Dosage de la glycyrrhizine dans le suc de réglisse, *Giornale di farmacia di Trieste*, 1899, p. 273. In *Report d. Pharm.*, 3^e série, **11**, p. 499.
42. MÜNTZER (C.). — Extractum Glycyrrhizae. *Amer. Journ. Pharm.*, 1888, **60**, p. 607.
43. NEDERLANDSCHE PHARMACOPÉE. — 4^e Edit., 1905, p. 148 et p. 436.
44. — 5^e Edit., 1926, p. 176 et p. 469.
45. NEUBERG. — In Bergmann 1933, *loc. cit.*
46. PARRY (E. J.). — The Liquorice juice of commerce, *Chem. a. drugg.*, 1910, **76**, p. 21-22 et 1911, **78**, p. 625.
47. PEYER (W.). — Die Untersuchung und Wertbestimmung von Succus Liquiritiae. *Apoth. Zeit.*, 1925, **40**, p. 501-504.
48. PHARMACOPÉE FRANÇAISE. — 5^e Edit., 1908, p. 693.
49. — 6^e Edit., 1937, **2**, p. 991.
50. PICHARD (G.). — Etude comparée des modes de préparation de l'extrait de réglisse, *J. Pharm. Chim.*, 1916, **17**, p. 16-18.
51. PICHARD (G.). — Etude pharmacologique de la réglisse. Thèse Doct. Univ. Pharm. Montpellier, 1918, 93 p. Firmin et Montane, Montpellier, éditeur.
52. PY (G.). — Analyse et composition des sucs de réglisse. *J. Pharm. Chim.*, 1897, **5**, p. 280.
53. RUMP (C.). — Ueber Succus Liquiritiae crudus, Succus Liquiritiae depuratus und Glycyrrhizin. *Neues Repert. Pharm.*, 1855, p. 153-159.
54. RUZICKA (L.), und COHEN (S. L.). — Ueber die Natur des vierten Sauerstoffatoms der glycyrrhetinsäure. *Helv. Chim. Acta*, 1937, **20**, p. 806.
55. RUZICKA (L.) FURTER (M.), und LEUENBERGER (H.). — Ueber die Bruttoformel der Glycyrrhetinsäure. *Helv. Chim. Acta*, 1937, **20**, p. 312-325.

56. RUZICKA (L.) und LEUENBERGER (H.). — Zur Kenntnis der Glycyrrhetinsäure. *Helv. Chim. Acta*, 1936, **19**, p. 1402-1406.
57. RUZICKA (L.), LEUENBERGER (H.) und SCHELLENBERG (H.). — Katalytische Hydrierung der α - β ungesättigten Keto-gruppe in der Glycyrrhetinsäure und dem Keto α -amyrin. *Helv. Chim. Acta*, 1937, **20**, p. 1271-1279.
58. RUZICKA (L.) und VAN VEEN (A. G.). — Beitrag zur Kenntnis der Zusammenhänge zwischen den Sapogeninen, höheren Terpenverbindungen und Sterinen. *Z. Physiol. Chem.*, 1929, **184**, p. 69-82.
59. SAREB (ETABLISSEMENTS). — Procédé pour la préparation de la glycyrrhizine épurée (glycyrrhizine blonde). Brevet d'invention, n° 797.612, du 12 nov. 1935, publié le 1^{er} mai 1936.
60. SCHMIDT (E.). — Ausführliches Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie, 1911, p. 1964-1967 ; 5. Aufl. Braunschweig. Vieweg und Sohn, éd.
61. SCHRÖDER (L. J.). — Examination of Glycyrrhiza extracts. *Amer. Journ. Pharm.*, 1874, **56**, p. 311.
62. SIMON (E.). — Bestimmung von Furfurol. *Biochem. Z.*, 1932, **247**, p. 171-177.
63. STERN (F.). — Zur Ausscheidung der Aetherschwefelsäure und Glucuronsäure nach Eingabe aromatischer Substanzen. *Z. Physiol. Chem.*, 1910, **68**, p. 52-68.
64. STÖDER (W.). — Bestimmung der Glycyrrhizinsäure in *Succus Liquiritiae*. *Pharm. Z.*, 1901, **46**, p. 541.
65. TELLE (F.). — Composition et analyse des sucs de réglisse. *Ann. Fals. et Fraudes*, 1911, **27**, p. 3.
66. TOCCO-TOCCO (L.). — Ricerche chimiche e farmalogiche sul principio attivo (glicirrizina) della liquorizia. *Arch. Intern. Pharmacod.*, 1924, **28**, p. 11-21 et 445-454.
67. — E il principio attivo della liquorizia una sostanza del gruppo delle saponine. *Arch. Intern. Pharmacod.*, 1924, **28**, p. 455-466.
68. TOLLENS (C.). — Quantitative Bestimmung der Glukuronsäure im Urin mit der Furfurol-Salzsäuredestillation methode. *Z. Physiol. Chem.*, 1909, **61**, p. 95-111.
69. — Ueber Glukuronsäure und Aetherschwefelsäuren in

- menschlichen Urine. *Z. Physiol. Chem.*, 1910, **67**, p. 138-154.
70. TOLLENS (C.), und STERN (F.). — Ueber die Menge der in normalen und pathologischen menschlichen Urine ausgeschieden Glukuronsäure. *Z. Physiol. Chem.*, 1910, **64**, p. 39-46.
71. TOLLENS (B.), und KRÖBER. — *Journ. d. Landw.*, 1900, **48**, p. 357 et 1901, **49**, p. 7, in Eder und Sack, *loc. cit.*
72. TRÜBECK (M.). — The Technical Analysis of Licorice pastes. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1900, **22**, p. 19-21.
73. TSCHIRCH (A.) und CEDERBERG (H.). — Ueber das Glycyrrhizin. *Arch. d. Pharm.*, 1907, **245**, p. 97-111.
74. TSCHIRCH (A.) und GAUCHMANN (S.). — Weitere Untersuchungen über die Glycyrrhizinsäure. *Arch. d. Pharm.*, 1908, **246**, p. 545-565 et 1909, **247**, p. 121-123.
75. UNGER (E.) und JAEGER (R.). — Ueber Pentosanbestimmungen. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1903, **36**, p. 1222-1229.
76. VOSS (W.), KLEIN (P.), und SAUER (H.). — Zur Kenntniss des Glycyrrhizins. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1937, **70**, p. 122-132.
77. VOSS (W.), KLEIN (P.), SAUER (H.), und PFIRSCHKE (J.). — Zur Kenntniss des Glycyrrhizins. *Z. Angew. Chem.*, 1936, **49**, p. 556-557.
78. VOSS (W.) und PFIRSCHKE (J.). — Ueber ein neuartiges Disaccharid als Zucker anteil der Glycyrrhizins. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 1937, **70**, 132-137.
79. ZETSCHKE (F.). — Die Bestimmung der Glycyrrhizinsäure im Succus Liquiritiae. *Pharm. Centralh.*, 1901, **22**, p. 277-283.
80. ZIMMERMANN (W.). — Vergleichende Untersuchungen über Succus Liquiritiae. *Apoth. Z.*, 1918, **33**, p. 319, in Eder und Sack, *loc. cit.*
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	9
CHAPITRE I. — <i>Historique et constitution de la glycyrrhizine</i>	12
CHAPITRE II. — <i>Caractères physiques et chimiques de la glycyrrhizine</i>	18
CHAPITRE III. — <i>Dosage de la glycyrrhizine dans le suc de réglisse</i> ..	22
I. Le liquide employé pour dissoudre le suc.....	23
II. Les méthodes de dosage sans hydrolyse de la glycyrrhizine.....	25
A. Méthodes pondérales.....	25
La solubilité de la glycyrrhizine et les pertes qu'elle	
cause.....	26
L'acide employé pour la précipitation.....	28
Pureté du produit pesé.....	28
Influence de la dessiccation du suc.....	30
Examen rapide des méthodes étudiées par Linz....	32
Etude des méthodes pondérales retenues par Linz et	
de celles publiées depuis 1916.....	40
Méthode de Fromme.....	40
— Astruc et Pichard.....	42
— Lehmann.....	43
— Diehl.....	44
— Parry.....	45
— Evans Sons.....	46
— Houseman [1912].....	47
— Linz.....	48
— Houseman [1921].....	50
— Codex Hollandais.....	52
— Gadais.....	53
— Schmidt.....	55
— Peyer.....	56
B. Méthode volumétrique	57
III. Les méthodes de dosage avec hydrolyse de la glycyrrhi-	
zine.....	60
Méthode basée sur le dosage de l'acide uronique.....	60
Méthode basée sur le dosage du furfurol.....	62
Conclusions sur le dosage dans le suc.....	65
Procédé de l'auteur	67

CHAPITRE IV. — <i>Dosage de la glycyrrhizine dans l'extrait de réglisse.</i>	70
CHAPITRE V. — <i>Dosage de la glycyrrhizine dans les glycyrrhizines commerciales</i>	73
CHAPITRE VI. — <i>Dosage de la glycyrrhizine dans la racine et dans la poudre de réglisse</i>	77
Procédés pondéraux	79
Procédé volumétrique	82
Procédé par dosage de l'acide uronique	82
Procédé par dosage du furfurol	83
CONCLUSIONS	84

